

Medizinische Fakultät
der
Universität Duisburg-Essen

Aus der der Abteilung für Medizinische Physik
der Klinik für Strahlentherapie

Evaluierung der dynamischen kontrastmittelverstärkten
magnetresonanztomographischen Perfusionsbildgebung im Bereich der
Extremitätenmuskulatur am narkotisierten Schwein

I n a u g u r a l – D i s s e r t a t i o n

zur

Erlangung des Doktorgrades der Medizin
durch die Medizinische Fakultät
der Universität Duisburg-Essen

Vorgelegt von
Marc Oliver Maaß
aus Oberhausen
2017

Dekan: Herr Univ.-Prof. Dr. med. J. Buer
1. Gutachter: Herr Priv.-Doz. Dr. rer. nat. L. Lüdemann
2. Gutachter: Herr Priv.-Doz. Dr. med. H. Kühl

Tag der mündlichen Prüfung: 9. November 2017

Publikationsliste

Sauerbrey, A., Hindel, S., Maaß, M., Krüger, C., Wissmann, A., Kramer, M., Nafz, B., Lüdemann, L. (2014): Establishment of a Swine Model for Validation of Perfusion Measurement by Dynamic Contrast-Enhanced Magnetic Resonance Imaging. Online-Publikation, BioMed Res Int, 2014, <http://doi.org/10.1155/2014/390506>

Hindel, S., Sauerbrey, A., Maaß, M., Maderwald, S., Schlamann, M., Lüdemann, L. (2015): Validation of Perfusion Quantification with 3D Gradient Echo Dynamic Contrast-Enhanced Magnetic Resonance Imaging Using a Blood Pool Contrast Agent in Skeletal Swine Muscle. Online Publikation; PLoS One, 10, <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0128060>

Hindel, S., Söhner A.; Maaß, M., Sauerwein, W., Baba, H.A., Kramer, M., Lüdemann, L. (2017): Validation of Interstitial Fractional Volume Quantification by Using Dynamic Contrast-Enhanced Magnetic Resonance Imaging in Porcine Skeletal Muscles. Invest Radiol, 52, 66-73

Hindel, S., Söhner, A., Maaß, M., Sauerwein, W., Möllmann, D., Baba, H.A., Kramer, M., Lüdemann, L. (2017): Validation of Blood Volume Fraction Quantification with 3D Gradient Echo Dynamic Contrast-Enhanced Magnetic Resonance Imaging in Porcine Skeletal Muscle, Online Publikation, PLoS One, 12, <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0170841>

Hindel, S., Papanastasiou, G., Wust, P., Maaß, M., Söhner, A., Lüdemann, L. (2017): Evaluation of Pharmacokinetic Models for Perfusion Imaging with Dynamic Contrast-Enhanced Magnetic Resonance Imaging in Porcine Skeletal Muscle Using Low-Molecular-Weight Contrast Agents, eingereicht zur Publikation in Magn Reson Med

Inhaltsverzeichnis.....	4
 1 Einleitung.....	6
1.1 Hintergrund	6
1.2 Ziel der Arbeit	7
1.3 Grundzüge des Versuchsvorhabens	8
1.4 Theoretische Grundlagen	10
1.5 Messverfahren der Perfusion	12
1.6 Pharmakokinetische Modelle.....	16
1.7 Medizinische Grundlagen	26
 2 Material und Methoden	37
2.1 Versuchstiere	37
2.2 Allgemeine Versuchsbeschreibung	37
2.3 Prämedikation und Narkoseeinleitung	39
2.4 Narkoseführung	40
2.5 Chirurgisches Procedere	41
2.6 Transport ins MRT	45
2.7 Aufbau im MRT.....	46
2.8 Protokoll der Messungen im MRT	48
2.9 MRT Technik.....	50
2.10 Versuchsende	53
2.11 Methodik der Datenanalyse.....	54
 3 Ergebnisse	62
3.1 Allgemeines.....	62
3.2 Versuchstiere	62
3.3 Blutfluss.....	63
3.4 Adenosin: Dosis und Wirkungsbeziehung	63
3.5 Blutvolumenverhältnismethode.....	65
3.6 Überprüfung des linearen Zusammenhanges.....	70

4 Diskussion.....	73
4.1 Vorbemerkung	73
4.2 Kritische Würdigung des experimentellen Vorgehens	74
4.3 Zusammenhang zwischen Blutfluss und Blutvolumen	75
4.4 Adenosin: Dosis-Wirkung-Beziehung	77
4.5 Regionale Verteilung der Blutvolumenzunahme	79
4.6 Effekt im Knochensegment.....	80
4.7 Effekt im Haut- und Fettgewebe	80
4.8 Dimension der bestimmten relativen Blutvolumina.....	81
4.9 Schlussfolgerungen.....	83
 5 Zusammenfassung.....	 84
 6 Anhang.....	 85
6.1 Literaturverzeichnis.....	85
6.2 Abkürzungsverzeichnis.....	94
6.3 Abbildungsverzeichnis	98
6.4 Tabellenverzeichnis.....	100
6.5 Danksagung.....	101
6.6 Lebenslauf.....	102

1 Einleitung

1.1 Hintergrund

Die Kenntnis der lokalen Durchblutungsverhältnisse ist bei zahlreichen Erkrankungen nützlich für die Therapie und die Beurteilung von Verlauf und Prognose. Als Beispiele seien Herz- und Hirninfarkte, Durchblutungsstörungen der Nieren und maligne Tumoren genannt. Unter dem Begriff der „Perfusion“ (lat. perfundere, durchströmen) wird in der Medizin das Durchströmen eines Organs mit einer Flüssigkeit verstanden. Häufig wird der Begriff verwendet, um die Versorgung eines Gewebes mit Blut zu beschreiben, also den kapillären Blutfluss. Der Begriff „Perfusion“ ist somit vom Begriff „Blutfluss“ in großen Gefäßen abzugrenzen. Zur Bestimmung der Perfusion existieren vielfältige Messtechniken. Allen Techniken ist dabei gemeinsam, dass das Blut und dessen Verteilung indirekt über einen beigemischten oder körpereigenen Indikator nachgewiesen werden. Aus der Anflutung des Indikators, welcher auch Marker (engl. Tracer) oder Kontrastmittel (KM) genannt wird, kann dann auf die lokale Perfusion geschlossen werden. Ein klassisches Beispiel dafür ist die Herz-Minuten-Volumenbestimmung durch die sog. Indikatorverdünnungsmethode nach Stewart und Hamilton. Hierbei wird im Prinzip ein Farbstoff zentral injiziert und in einer peripheren Arterie die Farbstoffverdünnung in Abhängigkeit von der Zeit als Zeitkonzentrationskurve aufgezeichnet. Aus der Fläche unter der Kurve lässt sich die Perfusion quantifizieren (Hamilton, et al., 1932) (Stewart, 1897).

In den letzten Jahrzehnten wurden bei der Messung der lokalen Perfusion mit bildgebenden Verfahren große Fortschritte gemacht. Die Erfindung der Computertomographie (CT) durch Hounsfield Ende der 1960er Jahre legte die Grundlage für die orts aufgelöste Perfusionsmessung in vivo. Als eine weitere Messmethode wird seit den 1970er Jahren die Positronen-Emissions-Tomographie (PET) für Perfusionsmessungen mittels Bestimmung der Indikatorzeitkonzentrationskurven eingesetzt. Als Marker kommen dabei radioaktive Substanzen (zum Beispiel H_2^{15}O) für die PET und Röntgenkontrastmittel für die CT zum Einsatz. Da diese Verfahren den Nachteil der Strahlenbelastung besitzen, wird für solche Messungen zunehmend die Magnetresonanztomographie (MRT) eingesetzt.

Die mathematische Beschreibung der Kontrastmittelextravasation ermöglicht den Zugang zu weiteren diagnostischen Parametern. Auf der Basis sogenannter pharmakokinetischer Modelle können Volumina derjenigen Gewebekompartimente, die niedermolekulare Kontrastmittel anreichern, nämlich das Gefäßvolumen, interstitielles Volumen und das verbleibende nicht anreichernde Kompartiment, das Zellvolumen, berechnet werden. Gleichzeitig können darüber hinaus die Anflutungsparameter der anreichernden Kompartimente, die Perfusion und die Permeabilität bestimmt werden. Zur Charakterisierung eines Gewebes werden damit funktionelle Parameter zugänglich, mit denen veränderte Gewebeeigenschaften besser dargestellt werden können. Praktischen Nutzen bekommt dies in der biologischen Bestrahlungsplanung von Tumoren, da die Strahlensensitivität eines Gewebes u.a. auf seiner Sauerstoffversorgung und somit auf der Perfusion beruht. Ein mit Sauerstoff gut versorgtes Gewebe ist strahlenempfindlicher als ein hypoxisches Gewebe. Ein Tumorgewebe ließe sich mittels einer orts aufgelösten Darstellung dieser Parameter effektiver bestrahlen. Auch ließe sich so der Erfolg und Verlauf einer solchen Radiotherapie kontrollieren, da als Folge der Apoptose bzw. des Zelltods nach Bestrahlung das interstitielle Volumen zunimmt und das Zellvolumen abnimmt.

1.2 Ziel der Arbeit

Die vorliegende Arbeit ist Bestandteil eines Forschungsprojektes, gefördert von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG, www.dfg.de, Förderkennzeichen LU 844/8-1), mit dem Ziel der Einführung der dynamischen kontrastmittelverstärkten MRT (engl. dynamic contrast enhanced magnetic resonance imaging (DCE-MRI)) in die biologische Bestrahlungsplanung und deren Evaluierung.

Auf dem Weg der Etablierung eines in der klinischen Routine anwendbaren Verfahrens zur orts aufgelösten Perfusionsmessung sollte in dieser Arbeit ein Tiermodell zur Durchführung validierender Perfusionsmessungen mittels DCE-MRI entwickelt werden. Eine Perfusionsvalidierung mittels DCE-MRI wurde bisher nur einmalig an der Niere mit einem einzigen intravasalen Kontrastmittel durchgeführt

(Lüdemann, et al., 2009). Die Ergebnisse der Arbeit aus 2009, welche auf Untersuchungen an der hochperfundierten Schweineniere beruhen, haben jedoch gezeigt, dass diese nicht ohne weiteres auf niedriger perfundierte Organe übertragen werden können. Die Studie zeigte eine systematische Überschätzung von niedrigen Perfusionswerten. Aus den gewonnenen Ergebnissen der in dieser Arbeit durchgeführten Validierungsmessungen sollen Korrekturen für zukünftige Perfusionsberechnung abgeleitet werden und für die praktische Anwendung nutzbar gemacht werden.

1.3 Grundzüge des Versuchsvorhabens

Konkret sollen in der vorliegenden Arbeit an einem Schweinehinterlauf verschiedenste Perfusionszustände durch kontinuierliche, lokale Injektion des Vasodilatators Adenosin hergestellt werden. Anhand von Perfusionsmessungen mittels Ultraschallsonde als Referenzmethode und DCE-MRI-Messungen unter Einsatz zweier Kontrastmittel soll eine Validierung der DCE-MRI durchgeführt werden. Der Einsatz zweier Kontrastmittel - eines niedermolekularen und eines hochmolekularen- dient der Vermeidung von Messfehlern, welche bei der Verwendung lediglich eines niedermolekularen Kontrastmittels aufträten. Niedermolekulare Kontrastmittel verlassen praktisch sofort das Gefäßsystem. Das führt dazu, dass die Signalanteile, die vom Kontrastmittel innerhalb der Gefäße ausgehen, nur sehr schwierig von den Signalanteilen, die vom außerhalb der Gefäße befindlichen Kontrastmittel ausgehen, separiert werden können. Erschwerend kommt hinzu, dass das Verteilungsvolumen für ein niedermolekulares Kontrastmittel außerhalb der Gefäße in der Regel deutlich größer ist als das innerhalb der Gefäße. Das führt dazu, dass der extravasale Signalanteil dominiert und der für die Perfusionsberechnung relevantere intravasale Signalanteil untergeht.

Als Versuchstier wurde das Hausschwein gewählt, da dieses im Vergleich zu anderen Modelltierarten große morphologische und physiologische Ähnlichkeit mit dem Menschen aufweist. Kreislaufparameter, Injektionsmengen von Medikamenten, Gefäßdurchmesser, Größenverhältnisse von Organen sind bei Schweinen mit denen von Menschen vergleichbar (Swindle, 1994). Darüber

hinaus ist das Signal-zu-Rausch-Verhältnis der Magnetresonanztomographie in erster Linie proportional zum Messvolumen. Da das Messvolumen bei Kleintieren mehr als eine Größenordnung geringer ist, ist aus diesem Grund das Signal-zu-Rauschverhältnis bei Kleintieren entsprechend deutlich schlechter, so dass eine Perfusionsvalidierung bei diesen Labortieren praktisch nicht durchgeführt werden kann.

Zur Auswertung der Perfusionsmessungen wurde Skelettmuskelgewebe betrachtet, da dies für das Versuchsvorhaben günstige Eigenschaften besitzt. Skelettmuskulatur besitzt aufgrund eines stark ausgeprägten Ruhetonus der versorgenden Gefäße, welcher wiederum auf die vasokonstriktorische Wirkung des Sympathikus zurückzuführen ist, eine niedrige Ruheperfusion. Die spezifische Durchblutung des ruhenden Skelettmuskels beim Menschen beträgt zum Beispiel im Mittel nur $0,03 \text{ ml} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$. Im Vergleich dazu beträgt die spezifische Durchblutung von Nierengewebe $4 \text{ ml} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$. Die Durchblutungsgrößen der wichtigsten menschlichen Organe in der Übersicht zeigt Tabelle 1.

Organ	Durchblutung			Organgewicht kg
	absolute ml/min	relative (HZV-bezogene) %	spezifische (gewichtsbezogene) $\text{ml} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$	
Gehirn	780	15	0,56	1,4
Myokard	250	5	0,83	0,3
Nieren	1200	23	4,0	0,3
Skelettmuskulatur	900	17	0,03	30
Haut	400	8	0,1	4
Leber	1500	28	1,0	1,5

Tabelle 1 Durchblutungsgrößen der menschlichen Organe (Thews,G, Vaupel, M.,1997)

Bei Muskelarbeit kann die Durchblutung des Skelettmuskels jedoch auf ein Vielfaches der Ruhedurchblutung gesteigert werden. Dies beruht auf hormonalen und metabolischen Faktoren, die für die Aufrechterhaltung der Vasodilatation und Feinregulation der Gefäßweite verantwortlich sind (Abnahme des O_2 -Partialdrucks, Zunahme des CO_2 -Partialdrucks, Ansteigen der Konzentrationen von H^+ , K^+ ,

Adenosin und Adenosinphosphaten im Extrazellarraum) (Thews, 1997). Die Eigenschaft der Skelettmuskulatur, eine niedrige Ruhedurchblutung mit gleichzeitig hoher Durchblutungsreserve zu besitzen, ist für eine Validierung von Perfusionsmessungen sehr geeignet.

1.4 Theoretische Grundlagen

1.4.1 Grundlage der orts aufgelösten Dosisverschreibung

MR-tomographische bildgebende, orts aufgelöste parametrische Perfusionsmessungen wären in der onkologischen Strahlentherapie von großem Nutzen, da sie eine lokal dosisangepasste Bestrahlungsplanung und auch Verlaufskontrollen einer solchen Strahlentherapie ermöglichen würden.

Dieses Dosismodulation genannte Prinzip (engl. „dose painting“) verfolgt als Ziel, die Bestrahlung eines Tumorgewebes angepasst an seine jeweilige lokale Strahlensensibilität durchzuführen. Mit Einführung der intensitätsmodulierten Strahlentherapie (IMRT) ist eine dosismodulierte Strahlentherapie mit gezielt inhomogenen Dosis Spitzen im Tumor realisierbar. Dieses konnte durch die Einführung der helikalen intensitätsmodulierten Bestrahlung (Tomotherapie) noch verbessert werden (Thorwart, et al., 2008). Prinzipiell ist eine individualisierte Strahlentherapie mit gezielter Dosis eskalation auf zwei Arten denkbar. Erstens kann die Bestrahlung eines unsensitiveren Zielvolumens mit höherer Dosis erfolgen (Rajendran, et al., 2006) (Chao, et al., 2003). Zweitens kann eine graduelle Dosiserhöhung entsprechend den lokalen Eigenschaften des Tumorgewebes durchgeführt werden, wobei unterschiedliche metabolische Indizes als Parameter zur Bestimmung der Dosis eskalation benutzt werden können. Diese sind zum Beispiel Perfusion, Glukosestoffwechsel, Metabolitenkonzentrationen oder Hypoxie (Vanderstraeten, et al., 2006) (van Lin, et al., 2006) (Alber, et al., 2003) (Ling, et al., 2000). Der Sauerstoffeffekt als Folge verminderter Perfusion, der hypoxische Zellen wesentlich unsensibler auf Strahlung reagieren lässt, ist das wichtigste Beispiel einer variierenden Strahlensensibilität. Tumorphypoxie beeinträchtigt die Heilungschancen einer Strahlentherapie erheblich (Nordsmark, et al., 1996) (Nordsmark, et al., 2000) (Brizel, et al., 1997) (Fyles, et al., 2002). Zudem konnte in einer Studie hinsichtlich

der Strahlentherapie von Prostatatumoren gezeigt werden, dass bei Hypoxie eine Dosisescalation sinnvoll ist (Nahum, et al., 2003).

Derzeit existiert jedoch in der klinischen Routine kein Verfahren, welches quantitative parametrische Bilder zur gewebespezifischen Bestrahlung bereitstellt.

1.4.2 Tumorkontrollwahrscheinlichkeit

Um das Prinzip der Dosismodulation in der Bestrahlungsplanung umzusetzen, ist es erforderlich, dass für jedes Voxel in einem bildgebenden Verfahren separat die im Tumor zu applizierende Dosis definiert wird. Dazu müssen metabolische Parameter, zum Beispiel Perfusion, Glukosestoffwechsel, Metabolitkonzentration oder direkt die Hypoxie, in ein Tumorkontrollmodell zur Dosisescalation eingebunden werden. Üblicherweise werden Poissonmodelle zur Berechnung der Tumorkontrollwahrscheinlichkeit, *TCP* (engl. tumor control probability), verwendet (Webb, et al., 1993):

$$-\ln TCP(D) = \rho \exp(-\alpha_0 D) \quad (1)$$

Dabei ist ρ die mittlere Anzahl der Zellen, α_0 die Strahlenempfindlichkeit im nicht-hypoxischen Fall und D die gesamte lokale Strahlendosis. Aufgrund von Hypoxie verringert sich die lokale Strahlenempfindlichkeit im Voxel i . Um die Tumorkontrollwahrscheinlichkeit trotz der geringeren Strahlensensibilität konstant zu halten, muss bei einer vergleichbaren Zelldichte ρ_i die lokale Dosis entsprechend gegenüber der Dosis D_0 bei nicht-hypoxischem Tumor auf D_i erhöht werden. Nimmt man zusätzlich an, dass die Änderungen gegenüber nicht-hypoxischem Gewebe moderat sind, so kann Gleichung 1 umgeschrieben werden, wobei α_0 durch α ersetzt wird:

$$-\ln TCP(D) = \rho \exp(-\alpha_0 D_i) * M(\Delta\rho_i, \Delta\alpha_i) \quad (2)$$

Dabei ist $M(\Delta\rho_i, \Delta\alpha_i)$ eine Funktion der Änderung der Zelldichte $\Delta\rho_i$ und der Änderung der Strahlensensibilität $\Delta\alpha_i$. Wenn man ferner davon ausgeht, dass nur zwei Arten von Zellen vorhanden sind, hypoxische und nicht-hypoxische, dann

muss mit bildgebenden Verfahren die hypoxische Zellfraktion und die lokale Zelldichte bestimmt werden. Häufig ist das nicht direkt möglich, aber dann können abgeleitete Parameter verwendet werden (Thorwarth, et al., 2005). Durch Messungen der Tumorkontrollrate an Patienten, bei denen vor Therapie die entsprechende Bildgebung durchgeführt worden ist, wird eine phänomenologische Funktion an die experimentell ermittelten Parameter angepasst (Thorwarth, et al., 2005).

1.5 Messverfahren der Perfusion

1.5.1 Positronen-Emissions-Tomographie

Der Parameter der Hypoxie in einem Gewebe lässt sich quantitativ nur mit polarographischen Sonden invasiv über die Bestimmung des Sauerstoffpartialdruckes pO_2 erfassen (Lee, et al., 2008). In der Strahlentherapieplanung wird hingegen angestrebt, diesen Parameter orts aufgelöst dreidimensional und nicht invasiv zu messen. Ein Verfahren, welches dies indirekt erlaubt, ist die Positronen-Emissions-Tomographie (PET). Hierfür werden Biomarker eingesetzt, wie zum Beispiel ^{18}F -Fluoromisonidazol (FMISO) (Rasey, et al., 1996) (Hicks, et al., 2005) (Eschmann, et al., 2005), ^{18}F -Fluoroazomycin (FAZA) (Piert, et al., 2005) oder ^{60}Cu -Diacetyl-bis(N4)-Methylthiosemicarbazon (Cu-ATSM) (Dehdashti, et al., 2003) (Dehdashti, et al., 2003). Diese Marker bieten jedoch alle lediglich einen indirekten Zugang zur Hypoxie und keine quantitative Erfassung. Bei der Bildgebung besitzen diese Marker ein relativ schlechtes Signal-zu-Hintergrundverhältnis (Bentzen, 2005). FMISO ist der gängigste Marker, der selektiv in Arealen, die unter Sauerstoffarmut leiden, bindet (Laubenbacher, 1991). Die aus Hypoxie-PET-Untersuchungen gewonnen Informationen über die Tumorbiologie liefern wertvolle Hinweise für die Bestrahlungsplanung. Thorwarth et al. zeigten, dass über die Einführung eines Malignitätsindex M, der auf einem Perfusions- und Hypoxieindex beruht (vergleiche Gleichung 2), die Bestimmung einer individuellen Dosisescalation anhand der Bildgebung möglich ist (Thorwarth, et al., 2008). In der theoretischen Überlegung ist es erwartungsgemäß unwahrscheinlich, dass eine hohe Perfusion mit einer Nekrose im Tumor einhergeht. MR-Untersuchungen von Hirntumoren

haben jedoch gezeigt, dass Areale hoher Perfusion und Nekrosen mit Hypoxie nur wenige Millimeter nebeneinander existieren (Lüdemann, et al., 2000). Es besteht die Möglichkeit, dass das PET-Verfahren aufgrund der niedrigeren intrinsischen Auflösung und des Signalüberschreitens zwischen Voxeln bestimmte Areale irrtümlich als hochperfundiert und gleichzeitig als nekrotisch darstellt und dementsprechend nur bedingt für eine Bestahlungsplanung geeignet ist (Christian, et al., 2009). Neben den hohen Kosten hat die FMISO-PET noch Nachteile, die die klinische Anwendung betreffen. Die dynamische Messung der Anflutung des Markers (Perfusionsindex) dauert länger als eine Stunde, für die Erfassung der Hypoxie sind weitere Messungen über insgesamt 3 weitere Stunden erforderlich, so dass der Patient eine Gesamtuntersuchungszeit von etwa vier Stunden erreicht (Thorwarth, et al., 2005). Hinzu kommen für den Patienten kontinuierliche Blutentnahmen, da sonst nur qualitative Daten gewonnen werden (Thorwarth, et al., 2008). Das messtechnische Prozedere sowie die technische Zusammenführung der über einen so langen Zeitraum akquirierten Daten bedeuten einen hohen Aufwand, der in der täglichen klinischen Routine nicht praktikabel ist. Ein weiteres PET-Verfahren zielt anders als die Tracermarkierung des hypoxischen Gewebes auf die quantitative Erfassung der Tumor-/Gewebeperfusion. In vivo wird die Perfusion derzeit am validesten mittels H_2^{15}O -PET bestimmt. Aufgrund des hohen Ressourcenverbrauches wird sie jedoch nur in wenigen Zentren angewandt und ist entsprechend kostenintensiv. Die Verfügbarkeit der Methode ist gering.

1.5.2 Spin-Bolus-Markierung

Eine Perfusionsquantifizierung mittels MRT ist durch Anwendung des sog. ASL (Arterial Spin Labeling) möglich (Warmuth, et al., 2007). Kontrastmittel werden hierbei nicht benötigt. Beim ASL wird die Längsmagnetisierung des Blutes als körpereigener Marker verwendet. Dazu wird diese in einem zuführenden Blutgefäß entweder invertiert oder nicht. Wenn das Blut ein Zielgewebe erreicht bevor seine Längsmagnetisierung wiederhergestellt ist, bewirkt es dort eine Signalabschwächung. Diese liegt im Prozentbereich und ist normalerweise zu klein für die direkte Messung. Es werden deshalb Datensätze ausgewertet, die

durch die Subtraktion von Bildern mit und ohne Vorsättigung des zuführenden Blutes erhalten werden.

Die ASL kann jedoch keine Aussagen über kinetische Parameter wie zum Beispiel die Gefäßpermeabilität oder das interstitielle Volumen treffen. Sie liefert nur indirekt Informationen über mögliche hypoxische Areale und kann aufgrund des geringen Signal-Rausch-Verhältnisses nur in hochperfundierten Geweben im Regelfall eingesetzt werden (Warmuth, et al., 2007). Je höher die Feldstärke, desto besser die Aussagekraft der ASL. Daher kommen meist Feldstärken von 3 Tesla und mehr zum Einsatz, welche flächendeckend nicht verfügbar sind. Eine weitere Einschränkung des Verfahrens ist die hohe Artefaktanfälligkeit, die den Einsatz der Methode reduziert.

1.5.3 Dynamische kontrastmittelbasierte MRT-Methoden

Die dynamische kontrastmittelverstärkte MRT ist ein bildgebendes Verfahren zur Darstellung und Quantifizierung der Durchblutung von Organen und Geweben, welches keine Anwendung radioaktiver Strahlung oder Röntgenstrahlung benötigt. Im Vergleich zur PET ist sie kostengünstiger und kann neben perfusionsgewichteten Bildern auch hypoxische Gewebeareale (Lüdemann, et al., 2002) erfassen. Innovationen in der Datenauswertung erlauben eine Quantifizierung in Form von parametrischen Bildern mit einer Skalierung in SI-Einheiten. Die DCE-MRI profitiert besonders von der parallelen Bildgebung. Bei den dynamischen Messungen müssen Kontrastmittelkonzentrationen zeitlich mit einer Auflösung von unter zwei Sekunden erfasst werden. Daher war es anfänglich nur möglich die Perfusion in einzelnen Schichten zu messen. Seit Einführung der parallelen Bildgebung kann die Volumenabdeckung der Perfusionsmesssequenzen deutlich erhöht werden. Eine parallele Bildgebung unter Verwendung von Vielkanalspulen in Kombination mit der Aufteilung der k-Raum-Zeilen auf verschiedene Akquisitionszeiten (k-t-sense) erlaubt die für eine biologische Bestrahlungsplanung notwendige Volumenabdeckung.

Zur Bestimmung von Tumorvaskularisation, Gefäßpermeabilität und Perfusion werden in der klinischen Routine exogene wasserlösliche Substanzen intravaskulär appliziert und die daraus resultierenden Veränderungen der

Konzentrationen im Blut und Gewebe gemessen. Die Perfusion F und das Verteilungsvolumen V_d lassen sich mittels der arteriellen Eingangsfunktion (arterial input function, AIF), die aus der Konzentrations-Zeit-Kurve C_a des Blutes in einer großen Arterie gewonnen wird, anhand der folgenden Formel berechnen:

$$\frac{dC_t}{dt} = F(C_a - \frac{C_t}{V_d}) \quad (3)$$

Bei Substanzen, die umgehend extravasieren, beschreibt V_d das gesamte Gewebevolumen und $C_t(t)$ die Gewebekonzentration in Abhängigkeit von der Zeit. Bei Substanzen, die eingeschränkt extravasieren, befindet sich das Kontrastmittel zu Beginn überwiegend in den Gefäßen. Daher wird dieser Zeitraum genutzt, um die Perfusion und das Gefäß- bzw. Blutvolumen zu bestimmen. Jedoch auch in dieser Phase extravasiert ein Teil der Moleküle proportional zum sog. Permeabilitätsflächenprodukt (PS) und beeinflusst das gemessene Signal.

Ist die Extravasion eines niedermolekularen Kontrastmittels im Bereich der Perfusion, so ist die Einführung eines Extraktionskoeffizienten zur Beschreibung notwendig, $E = 1 - e^{(-PS/F(1-Hct))}$ (Tofts, et al., 1999):

$$\frac{dC_i}{dt} = EF \frac{(C_p - C_i)}{V_i} \quad (4)$$

Die Parameter Gefäßvolumen und Perfusion können aus der Konzentrationsänderung des KM nach Injektion und dem sich damit ändernden Messsignal bestimmt werden. Das Permeabilitätsflächenprodukt kann aus der sich anschließenden Phase der langsamen Signaländerung bestimmt werden, welche sich über einen Zeitraum von mehreren Minuten erstreckt (Shames, et al., 1993) (Larsson, et al., 1994). Eine besonders hohe Extravasation ist bei niedermolekularen Kontrastmitteln mit einem relativen Anreicherungsmaximum nach etwa 6 min. bei Tumoren festzustellen (Hunter, et al., 1998) (Lüdemann, et

al., 2002). Beim Tumor ist diese verstärkte Anreicherung auf nekrotisches Gewebe zurückzuführen (Lüdemann, et al., 2002). Die verstärkte Anreicherung in nekrotischem Tumorgewebe ist vor allem auf die Vergrößerung des interstitiellen Verteilungsvolumens zurückzuführen. Eine Vergrößerung des interstitiellen Volumens eignet sich daher als Nekroseparameter (Lüdemann, et al., 2005), so dass der Einsatz eines niedermolekularen Kontrastmittels bei der DCE-MRT über die Bestimmung des Volumenanteils des interstitiellen Gewebes einen Hypoxieparameter bereitstellt. Nachteil der Verwendung niedermolekularer Kontrastmittel ist die Vermischung des Perfusions- und Extravasationssignals. Diese müssen voneinander separiert werden. Niedermolekulare Kontrastmittel extravasieren bereits nach wenigen Sekunden (van den Biesen, 1997) (Verstraete, et al., 1995), so dass zur Verbesserung der Separation der Signalanteile von intra- und extravaskulärem Kontrastmittel ein niedermolekulares Kontrastmittel innerhalb weniger Sekunden als Bolus peripher venös appliziert wird, um hochkonzentriert durch das Kapillarbett eines Gewebes zu fließen („First Pass“). Das weitgehend intravasal verbleibende Kontrastmittel Gadofosveset (Vasovist, Schering AG, Berlin) ist aus wirtschaftlichen Gründen vom Markt genommen worden und nicht mehr für die Anwendung am Menschen verfügbar, obwohl es für Perfusionsmessungen bestens geeignet wäre.

Gadolinium-haltige Kontrastmittel bewirken zwei im MRT messbare Veränderungen: Die Verkürzung der T1- und T2-Relaxationszeit. Der Kontrastmittelbolus kann durch Ausnutzung beider Effekte dargestellt werden. Bei der dynamischen MRT finden daher zwei Messtechniken Anwendung: T1- (DCE-MRI) und T2 bzw. T2*-gewichtete Sequenzen (DSC MRI) (Nagel, et al., 2000).

1.6 Pharmakokinetische Modelle

1.6.1 Allgemeines

Abhängig von den zu bestimmenden Parametern werden bei der dynamischen kontrastmittelbasierten MRT zur Auswertung unterschiedliche pharmakokinetische Modelle benutzt. Das einfachste Modell ist das Ein-Kompartiment-Modell. Dieses basiert auf der Annahme, dass sich Kontrastmittel nur in Blutgefäßen befindet und nicht extravasiert (Rosen, et al., 1989) (Rosen, et al., 1990) oder sich komplett im

Gewebe verteilt. Messungen, die auf dem Ein-Kompartimentmodell beruhen, verwenden für Perfusionsmessungen am Gehirn überwiegend T2- und T2*-gewichtete Sequenzen. Diese weisen einen geringen Signalanstieg bei niedrigen KM-Konzentrationen auf, der bei den in der Routine eingesetzten hohen KM-Dosen in eine exponentielle Signalabschwächung übergeht. Der T2*-Effekt ist besonders geeignet, den KM-Gradienten zwischen Blut und Gewebe darzustellen.

Bei Geweben mit KM-Extravasation interferiert jedoch der T1-Effekt des extravasierenden KM mit der Signalabschwächung des Bolussignals, was einen deutlichen Fehler bei der Berechnung von Blutfluss und Volumen bewirkt (Bruening, et al., 1996) (Wenz, et al., 1996). Stark vaskularisierte Gewebe weisen eine Extravasation von 30-50% eines niedermolekularen KM auf (Tong, et al., 1993) (Kuperman & Alley, 1999) (Barbier, et al., 1999), so dass dieser Effekt korrigiert werden muss (Boxerman et al., 2006). Sinnvoller für Perfusionsberechnungen ist daher die Annahme eines Zwei-Kompartimentmodells bei dem zwei Phasen berücksichtigt werden. Eine Phase berücksichtigt die KM-Extravasation, eine zweite beschreibt das Gefäßkompartiment. Diese Modelle basieren hauptsächlich auf T1-gewichteten Sequenzen. Häufig wird bei der Auswertung das Modell wieder auf ein Ein-Kompartimentmodell reduziert und lediglich das Interstitium betrachtet und das Gefäßkompartiment vernachlässigt. Das vereinfachte sogenannte Tofts-Modell wird in verschiedenen Varianten klinisch angewendet: Brix et al. applizieren KM kontinuierlich über ca. eine Minute und messen die maximale Amplitude und den folgenden Abfall der Signalintensität innerhalb eines definierten Gewebeanteils, so dass weder Perfusion noch Permeabilitätsflächenprodukt gemessen werden, sondern nur eine Transferkonstante bestimmt werden kann (Brix, et al., 1991) (Brix, et al., 2004) (Hawinghorst, et al., 1997) (Hawinghorst, et al., 1998). Bei Applikation eines KM als Bolus können weitergehende Methoden eingesetzt werden, die Bestimmungen des Gefäßvolumens und des interstitiellen Volumens sowie deren Austauschparameter ermöglichen (Degani, et al., 1997) (Donahue, et al., 1995). Ein umfassenderes Modell, welches diese Vorgänge beschreibt, ist dabei ein gemischt permeabilitäts-perfusionslimitiertes, welches eine durch die Perfusion limitierte KM-Extravasation durch die Einführung eines Extraktionskoeffizienten

berücksichtigt (Tofts, et al., 1999) und auch Grenzfälle hoher und niedriger Perfusion richtig erfasst.

Die dargestellten Modelle stellen die sog. erste Generation von kinetischen Modellen dar, welche auf Arbeiten von Larsson, Tofts und Brix et al. zurückgehen. Sie wurden in den 1990er Jahren entwickelt und werden häufig als sog. „Tofts-Modelle“ bezeichnet. Diese messen das interstitielle Volumen v_e , die Volumentransferkonstante K^{trans} und Blutvolumina eines Gewebes. Die Tofts-Modelle konnten jedoch keine Blutflusswerte generieren, da die zeitliche Auflösung der DCE-MRI ursprünglich nicht ausreichte, um diesen Parameter zuverlässig zu messen. Fortschritte in der Entwicklung von Hardware und bildgebenden Aufnahmesequenzen ermöglichten jedoch die Akquirierung größerer Datenmengen, die jedoch mit den Tofts-Modellen nicht immer ausreichend abgebildet wurden (Sourbron & Buckley, 2012). Dies führte zur Entwicklung von Modellen der zweiten Generation, welche die neu erreichte Datenqualität zur Generierung von Flusswerten F_p , Blutvolumina v_p , Permeabilitätsflächenprodukt PS und interstitielles Volumen v_e ausnutzt. Aus diesen vier Parametern lassen sich weitere in der folgenden Tabelle aufgezählte funktionelle Gewebeparameter ableiten.

Symbol	Interpretation	Units
v_p	Plasma volume	ml/100 ml
v_e	Interstitial volume	ml/100 ml
F_p	Plasma flow	ml/min/100 ml
PS	Permeability-surface area product	ml/min/100 ml
E	Extraction fraction	%
K^{trans}	Volume transfer constant	1/min
T	Mean transit time	min
T_e	Interstitial mean transit time	min
T_p	Plasma mean transit time	min
T_c	Capillary mean transit time	min
k_{ep}	Interstitium-to-plasma rate constant	1/min

Tabelle 2 Legende funktioneller Gewebeparameter (Sourbron & Buckley, 2012)

Die Modelle der zweiten Generation zielen im Wesentlichen auf die Bestimmung der aufgeführten ersten vier Parameter F_p , v_p , PS, und v_e ab und werden daher unter dem Begriff „Four-Parameter-Models“ zusammengefasst. Sie basieren auf

sog. Plasma- und Interstitiummodellen und stellen eine Kombination aus diesen dar.

Zum Verständnis der kombinierten Modelle ist die Kenntnis der Plasma- und Interstitiummodelle wichtig. Daher werden diese vor Erläuterung der 4-Parameter-Modelle kurz vorgestellt.

1.6.2 Plasmamodelle

2 Plasmamodelle werden häufig bei Auswertungen für die DCE-MRI benutzt. Pfropfenfluss, engl. Plug-Flow, meint dabei einen Blutfluss, bei dem alle Teilchen im Blutplasma eine konstante Geschwindigkeit besitzen. Bezogen auf die Situation in einer einzelnen Kapillare bedeutet dies, dass die Erythrozyten das Gefäß annähernd okkludieren und so bewirken, dass sich alle Substanzen mit derselben Geschwindigkeit fortbewegen. Diese Modellvorstellung eignet sich zur Auswertung, wenn ein hochgradig strukturiertes Kapillarbett vorliegt mit vielen identischen Kapillaren. Dagegen eignet sich das sog. Kompartimentmodell besser bei einem eher inhomogenen Kapillarbett mit unterschiedlich langen Kapillaren. Beide Modelle repräsentieren die entgegengesetzten Enden eines physiologischen Spektrums. Während im Kompartimentmodell eine starke Bolusdispersion aufgrund von unterschiedlich langen Kapillaren stattfindet, in denen sich die Anteile des Bolus vermischen, existiert diese Dispersion in einem Pfropfenfluss-System nicht. Die beiden Modelle zeigt anschaulich die Abbildung 3.

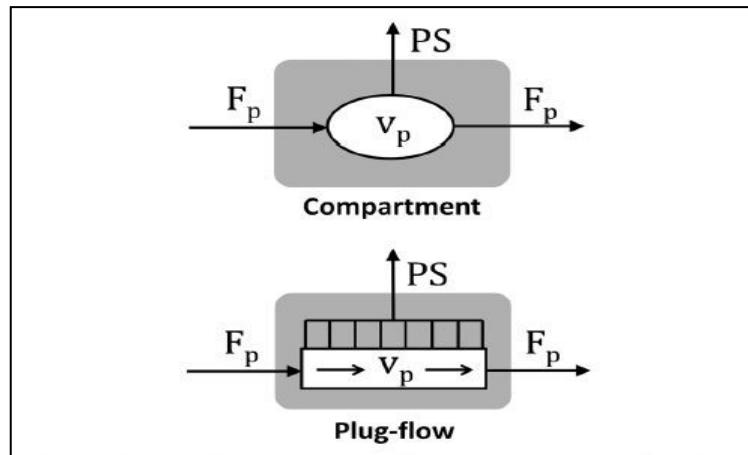


Abbildung 1 Bildliche Darstellung der zwei Plasmamodelle: Das Kompartimentmodell mit einer konstanten Indikatorkonzentration (oben) und das Pfropfenfluss- (Plug-Flow-) Modell mit einer konstanten Indikatorgeschwindigkeit (unten). Beide werden charakterisiert durch das Volumen v_p , das Permeabilitätsflächenprodukt PS und den Plasmafluss F_p durch den arteriellen Eingang und den venösen Ausgang (Sourbron & Buckley, 2012).

Formeltechnisch unterscheiden sich die aus den Modellen abgeleiteten Residuumsfunktionen $R(t)$ wie folgt.

Für das Kompartimentmodell gilt:

$$R(t) = e^{-t/T_p}, \quad T_p = \frac{v_p}{F_p + PS}$$

Für das Plug-Flow-Modell gilt:

$$R(t) = e^{-tPS/v_p} \theta\left(\frac{v_p}{F_p} - t\right)$$

1.6.3 Interstitiummodelle

Für das Kompartimentmodell des Interstitiums gilt die Annahme, dass eine Indikatorsubstanz das weitverzweigte Kapillarnetz in einem Gewebe gleichzeitig an vielen Stellen verlässt und an anderen aus dem Interstitium in dieses wieder zurückkehrt. Somit ergeben sich für das gesamte Interstitium betrachtet keine wesentlichen Konzentrationsunterschiede, obwohl lokal Konzentrationsgradienten bestehen können. Schreibt man für die einheitliche Konzentration des Indikators im Interstitium $c_e(t)$, für den Fluss aus dem Interstitium $PS_{c_e}(t)$ und für den Fluss aus dem Plasma heraus $PS_{c_p}(t)$, so ergibt sich die Gleichung:

$$v_e \frac{dc_e}{dt}(t) = PS_{c_p}(t) - PS_{c_e}(t)$$

Ein alternatives Modell für das Interstitium ist das sog. Aufteilungsmodell. Es basiert auf der Annahme, dass im Verlauf einer Kapillare Indikatorsubstanzen diese verlassen und zurückkehren und zwar in radiärer Richtung senkrecht zur Gefässachse. Außerhalb des Gefäßes im Interstitium findet jedoch keine Bewegung der Indikorteilchen in Längsrichtung, d.h. parallel zur Kapillare mehr statt. Alle Teilchen, welche die Kapillare also an einer bestimmten Stelle verlassen haben, werden an derselben Stelle wieder in das Gefäß reabsorbiert. Das Interstitium wird somit in unendlich kleine Kompartimente aufgeteilt, zwischen denen kein Indikatoraustausch stattfindet. Formeltechnisch ausgedrückt bedeutet dies für ein solches Kompartiment mit der Indikatorkonzentration $c_e(x,t)$:

$$v_e \frac{\partial c_e}{\partial t}(x,t) = PS_{c_p}(x,t) - PS_{c_e}(x,t)$$

Die beiden Interstitiummodelle zeigt die Abbildung 2

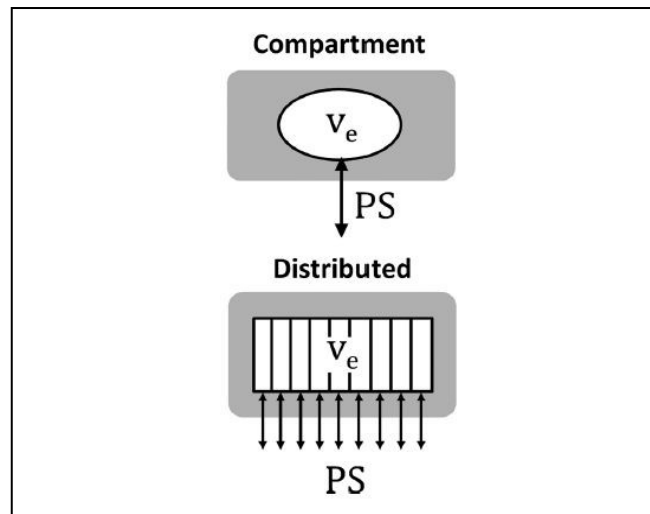


Abbildung 2 Darstellung der beiden Interstitiummodelle: Ein Kompartimentmodell (oben) mit einer konstanten Indikatorkonzentration und das Aufteilungsmodell, welches keinen Indikatortransport parallel zur Kapillare erlaubt. Beide werden charakterisiert durch das Volumen v_e und das Permeabilitätsflächenprodukt PS (Sourbron & Buckley, 2012).

1.6.4 Vier-Parameter-Modelle

Modelle für den Stoffaustausch zwischen Gefäß und Interstitium kombinieren die oben genannten Modelle für das Interstitium und Plasma.

Das Zwei-Kompartiment-Austausch-Modell (2CXM) betrachtet Interstitium und Plasmaraum als einzelne Kompartimente. Die Gleichung für die Masseerhaltung für das Plasmakompartiment wird mit einem zusätzlichen Ausdruck für den Zufluss aus dem Interstitium versehen, so dass sich folgende Gleichung ergibt:

$$v_p \frac{dc_p}{dt}(t) = F_p c_a(t) - F_p c_p(t) + PS c_e(t) - PS c_p(t)$$

Für das Interstitium gilt folgende Gleichung für die Masseerhaltung:

$$v_e \frac{dc_e}{dt}(t) = PS c_p(t) - PS c_e(t)$$

Die Impuls-Antwort-Funktion ist biexponentiell ($n=2$) aufgrund der zwei betrachteten Kompartimente. A_i, B_i sind Funktionen der Parameter F_p , v_p , PS, v_e :

$$I(t) = \sum_{i=1}^n A_i e^{-tB_i}$$

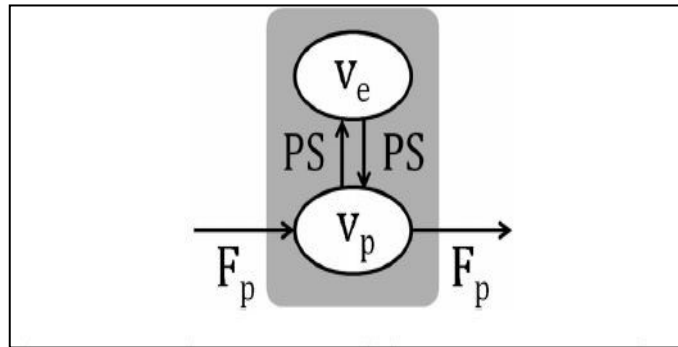


Abbildung 3 Darstellung des 2-Kompartiment-Austausch-Modell, welches formeltechnisch definiert wird durch die im Text genannten Gleichungen (Sourbron & Buckley, 2012).

Das Gewebehomogenitätsmodell (engl. Tissue-Homogeneity Model, abgekürzt TH) beruht auf der Annahme, dass der Plasmaraum sich wie ein Pfropfenflusssystem verhält und das Interstitium durch ein Kompartimentmodell repräsentiert wird. Die Modellgleichung setzt sich also zusammen aus der Masseerhaltungsgleichung des Pfropfenflusssystems mit einem zusätzlichen Ausdruck für den Zufluss aus dem Interstitium sowie der Masseerhaltungsgleichung für das Interstitium. Daraus resultiert eine Impuls-Antwort-Funktion, welche von den Parametern F_p , v_p , PS, v_e abhängt. Die Masseerhaltungsgleichungen lauten:

$$v_p \frac{\partial c_p}{\partial t}(x, t) = -F_p L \frac{\partial c_p}{\partial x}(x, t) - PS c_p(x, t) + PS c_e(t)$$

$$v_e \frac{dc_e}{dt}(t) = PS c_p(t) - PS c_e(t)$$

Das TH-Modell zeigt die folgende Abbildung 4.

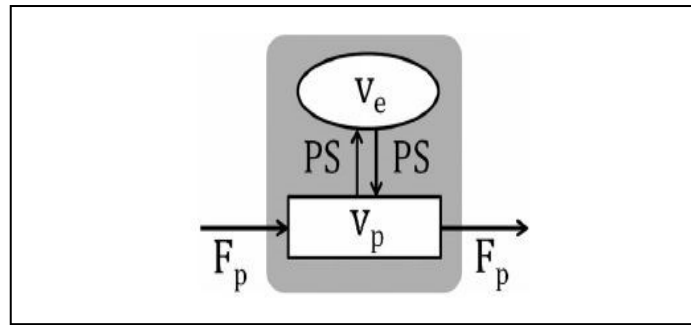


Abbildung 4 Darstellung des TH-Modells, in Formeln ausgedrückt durch o.g. Gleichungen (Sourbron & Buckley, 2012)

Die adiabatische Annäherung an das TH-Modell (AATH) betrachtet ebenfalls den Plasmaraum als Pfropfenflusssystem und das Interstitium als Kompartimentmodell. Der Unterschied zum TH-Modell liegt jedoch in der Annahme, dass ein Indikатораustausch nur am venösen Ende des Kapillarnetzes stattfindet. Dies entspricht zwar nicht den physiologischen Gegebenheiten, hat jedoch praktische Gründe. Die AATH entspricht formal einer Pfropfenflusskapillare ohne Indikатораustausch gefolgt von einem TH-Modell mit vernachlässigbar kleinem Plasmavolumen. Die Modellgleichung für das Plasma kann vereinfacht werden, indem $PS=0$ gesetzt wird. Nach Passage des Kapillarnetzes dient die venöse Konzentration des Indikators $c_v(t) = c_p(L, t)$ dann als Eingangsfunktion für ein schwach vaskularisiertes TH-Modell:

$$v_p \frac{\partial c_p}{\partial t}(x, t) = -F_p L \frac{\partial c_p}{\partial x}(x, t)$$

$$v_e \frac{dc_e}{dt}(t) = K^{\text{trans}} c_p(L, t) - K^{\text{trans}} c_e(t)$$

Das AATH-Modell zeigt die folgende Abbildung 5.

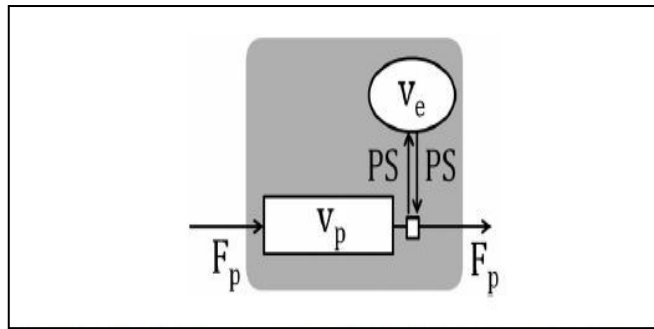


Abbildung 5 Darstellung des AATH-Modells definiert durch o.g. Gleichungen (Sourbron & Buckley, 2012)

Das verteilte Parametermodell, (engl. Distributed-Parameter Modell, abgekürzt DP) besteht aus einem Pfropfenflusssystem für das Plasma wie beim TH-Modell und der AATH sowie einem Aufteilungsmodell für das Interstitium. Das Interstitium wird durch die Masseerhaltungsgleichung des Aufteilungsmodells beschrieben. Die Gleichung für das Plasma entspricht der des TH-Modells, jedoch mit einer lokalen interstitiellen Indikatorkonzentration $c_e(x,t)$:

$$v_p \frac{\partial c_p}{\partial t}(x,t) = -F_p L \frac{\partial c_p}{\partial x}(x,t) - PS c_p(x,t) + PS c_e(x,t)$$

$$v_e \frac{\partial c_e}{\partial t}(x,t) = PS c_p(x,t) - PS c_e(x,t)$$

Das DP-Modell zeigt die folgende Abbildung 6.

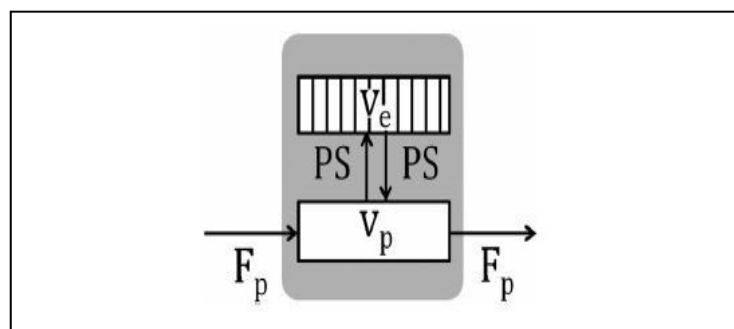


Abbildung 6 Darstellung des DP-Modells definiert durch o.g. Gleichungen (Sourbron & Buckley, 2012)

1.7. Medizinische Grundlagen

1.7.1 Aufbau des Gefäßsystems

Der Blutkreislauf des Menschen besteht aus einem in sich geschlossenen System von teils parallel, teils seriell geschalteten Blutgefäßen. Durch zwei funktionell hintereinander geschaltete Pumpen, den rechten und linken Ventrikel des Herzens, wird in diesem System ein Druckgefälle erzeugt, das eine gerichtete Blutströmung aufrecht erhält. Die Umlaufgeschwindigkeit des Blutes ist dabei in Abstimmung mit den Bedürfnissen der Gewebe an die jeweils erforderlichen Transportraten der Atemgase O_2 und CO_2 angepasst (Schmidt & Thews, 1997) (Thews, 1997).

Das Kreislaufsystem (vgl. Abbildung 7) besteht aus einem Körperkreislauf zwischen linkem Ventrikel und rechtem Vorhof und einem Lungenkreislauf, welcher die Lungenstrombahn umfasst. Als Gefäßtypen lassen sich in beiden Kreisläufen Arterien, Arteriolen, Kapillaren, Venolen und Venen differenzieren.

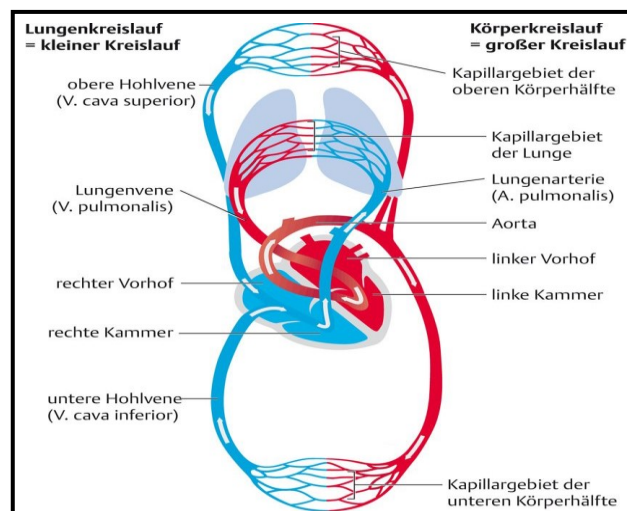


Abbildung 7 Schematische Darstellung des Körper- und Lungenkreislaufs (Bley, et al., 2015)

Die Aorta als größte Arterie dient mit ihrer elastischen Wand als mechanischer Zwischenspeicher für den vom Herzen erzeugten hohen systolischen Blutdruck. Sie erzeugt mit ihrer „Windkesselfunktion“ einen permanenten Blutstrom in und

durch die Peripherie. Die großen Arterien teilen sich unter stetiger Zunahme des Gesamtquerschnittes in mittelgroße, kleine und präkapillare Arterien (Arteriolen) auf, wobei die Dicke aller Wandschichten, besonders aber die der Tunica media abnimmt. Der allgemeine Wandaufbau aller Gefäße mit Ausnahme der Kapillaren ist durch eine charakteristische Dreischichtung gekennzeichnet (Intima, Media, Adventitia). Je nach Beanspruchung und Funktion variiert der Anteil der einzelnen Gewebeelemente. Dies betrifft insbesondere den Anteil und die strukturelle Anordnung der glatten Muskulatur sowie die Zusammensetzung von elastischen und kollagenen Fasern in der Media und Adventitia. Die Abbildung 8 zeigt vergleichend den histologischen Aufbau einer Arterie (links) und einer Vene (rechts). Intima und Media sind in der Arterie breiter und stärker entwickelt als in der Vene. Die Media weist in Arterien mehr glatte Muskelzellen und weniger Bindegewebe auf als in Venen.

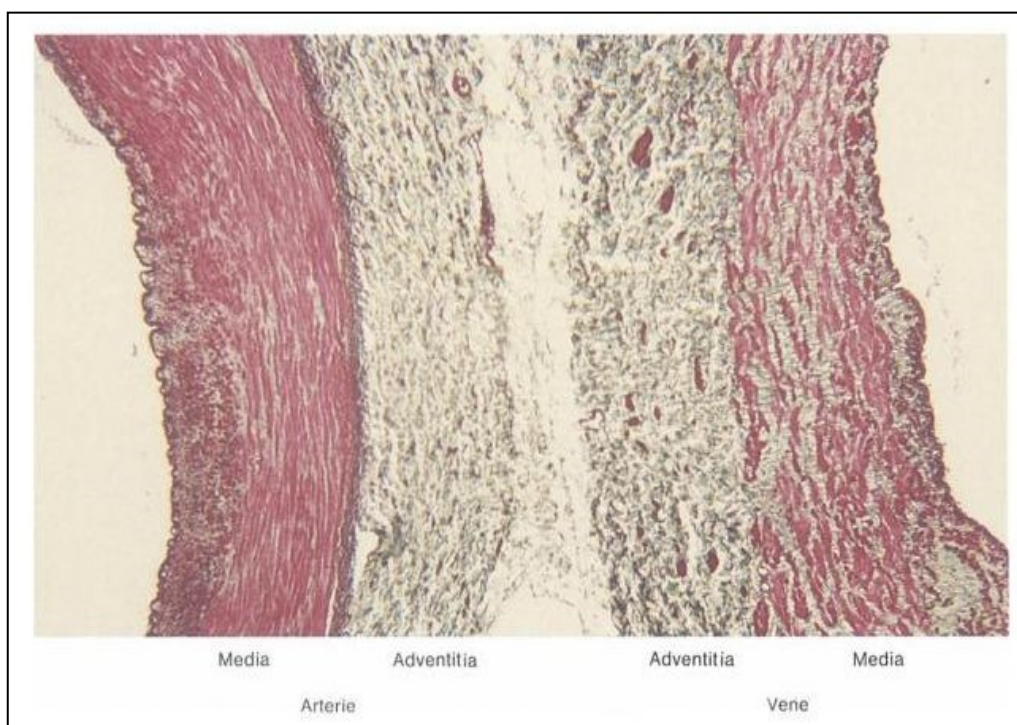


Abbildung 8 Histologischer Wandaufbau einer Arterie (links) und einer Vene (rechts), Vergrößerung 200fach (Junqueira, et al., 1996)

Die kleinsten präkapillären Gefäße, die Arteriolen, bestehen nur noch aus Endothel, Gitterfaserhäutchen und einer oft auch nicht mehr geschlossenen Lage glatter Muskelzellen. Der eigentliche Stoffaustausch findet in den kleinsten Blutgefäßen, den Kapillaren statt. Diese dünnwandigen „Röhren“ bestehen nur

noch aus einer Endothelzellschicht, umgeben von einer Basalmembran. Da sich die gesamte Querschnittsfläche der Kapillaren im Vergleich zu den großen Arterien um den Faktor 500 - 800 vergrößert, sinkt die Strömungsgeschwindigkeit auf 0,2 bis 1 mm/s. Bei einer Länge von 0,5 bis 1 mm und einem Durchmesser von 4 – 8 μm ergibt sich daraus in den Kapillaren eine Verweildauer des Blutes, auch Transferzeit genannt, von 0,5 bis 5 Sekunden. Die Kapillardichte in den einzelnen Organkreisläufen ist unterschiedlich. In den phasischen Einheiten der Skelettmuskulatur liegt sie zwischen 300-1000 pro mm^2 , in tonischen Einheiten bei 100 pro mm^2 . In Gehirn, Myokard und Niere beträgt die Dichte 2500 pro mm^2 bis 4000 pro mm^2 . Die Arteriolen regulieren über ihre Muskelkontraktion die Durchblutung des nachgeschalteten Kapillarnetzes. Unter Ruhebedingungen sind nur etwa ein Drittel aller Kapillaren durchströmt. Die effektive Austauschoberfläche beim Menschen beträgt dann etwa 300 m^2 (Schmidt & Thews, 1997).

Bei den Kapillaren unterscheidet man nach der Ultrastruktur Kapillaren vom kontinuierlichen, fenestrierten und diskontinuierlichen Typ.

Kapillaren vom kontinuierlichen Typ besitzen keine intrazellulären Poren. Hier stellen Interzellularspalten den Hauptpassageweg für Wasser, Glucose, Harnstoff und andere lipidunlösliche Moleküle dar. Sie finden sich in Herz- und Skelettmuskulatur, Haut, Binde- und Fettgewebe, Lunge und ZNS.

Fenestrierte Kapillaren sind 100-1000-fach permeabler für Wasser und kleine hydrophile Moleküle als die meisten Kapillaren kontinuierlichen Typs (Schmidt & Thews, 1997). Das Endothel weist intrazelluläre Poren auf, die Basalmembran ist bei diesem Kapillartyp noch vollständig erhalten. Sie finden sich in Geweben, die auf Flüssigkeitsaustausch spezialisiert sind: Nierenglomeruli oder exokrine Drüsen der Darmschleimhaut.

Beim diskontinuierlichen Kapillartyp sind inter- und intrazelluläre Lücken vorhanden, die auch die Basalmembran mit einschließen. Sie ermöglichen nicht nur den Durchtritt von Proteinen und anderen Makromolekülen, sondern auch von korpuskulären Elementen. Sie finden sich in Leber, Milz und Knochenmark.

Der Stoffaustausch in den Kapillaren geschieht auf verschiedenen Wegen. Lipidlösliche Stoffe, wie zum Beispiel die Atemgase O_2 und CO_2 können durch die gesamte Fläche des Endothels diffundieren. Das Konzentrationsgefälle dieser Substanzen zwischen Blut und Gewebe ist in Ruhe im Gleichgewicht und wird

durch die Anflutung nahezu vollständig ausgeglichen. Die Menge der ausgetauschten Stoffe ist proportional zur lokalen Durchblutung (durchblutungslimitierter Austausch). Wasserlösliche Substanzen wie Glukose, Aminosäuren, Proteine und das Wasser selbst können die Kapillarwand dagegen nur durch Poren oder interzelluläre Spalten passieren (diffusionslimitierter Austausch). Die Transportgeschwindigkeit hängt dabei wesentlich vom Verhältnis der Molekülgröße zum Porenradius ab. Während bei kleinen Molekülen wie Glukose die Diffusion nahezu ungestört verläuft, können größere Moleküle die Kapillarwand zunehmend schlechter passieren. Das Kapillarbett bildet das Ende des arteriellen Gefäßbaumes. Die Kapillaren münden in Venolen, die das Blut in immer größeren Venen sammeln, bis es schließlich über die Vena cava bzw. Venae pulmonales wieder das Herz erreicht. Der Blutfluss durch das Kapillarbett, der für die Versorgung der Zellen mit Nährstoffen sowie den Abtransport von Stoffwechselprodukten verantwortlich ist, wird „mikrovaskuläre Perfusion“ – oder oft auch nur „Perfusion“- genannt (Busse, 1997) (Kuschinsky, 1999) (Thews, 1997). Diese wird jedoch nicht nur durch den Kontraktionszustand der glatten Muskelzellen in den Arteriolen reguliert, sondern auch durch sog. arteriovenöse Anastomosen, verschlussfähige Kurzschlussverbindungen zwischen kleinsten Arterien und Venen. Eine bildliche Darstellung der vaskulären Endstrombahn zeigt die Abbildung 9.

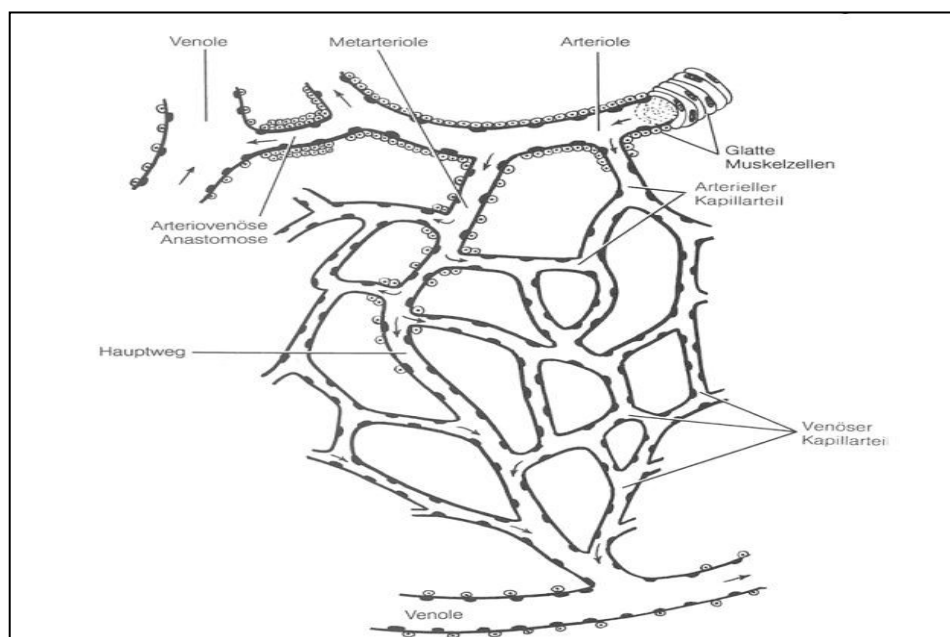


Abbildung 9 Endstrombahn des Gefäßsystems (Junqueira, et al., 1996)

1.7.2 Gesetzmäßigkeiten der Strömung im Gefäßsystem

Arterielle Blutgefäße sind durch ihren Wandaufbau dehnbar, so dass ihre Weite in Abhängigkeit vom vorherrschenden Innendruck variiert. Näherungsweise lässt sich ein Überblick über das Verhalten der Blutströmung im Gefäßsystem gewinnen, wenn man die Gesetzmäßigkeiten für die Strömung in starren Röhren anwendet.

Treibende Kraft für die Flüssigkeitsströmung ist ein Druckgefälle, das zur Überwindung des Strömungswiderstandes dient. Für ein starres zylindrisches Rohr mit benetzbaren Wänden, in dem eine stationäre, laminare Strömung einer homogenen (Newtonschen) Flüssigkeit vorliegt, gilt: Die Perfusion Q , d.h. das Flüssigkeitsvolumen, das pro Zeiteinheit durch den Rohrquerschnitt strömt, ist der Druckdifferenz zwischen Anfang und Ende des Rohres proportional:

$$Q = \Delta P / R.$$

In dieser Beziehung, die analog zum Ohmschen Gesetz ist, stellt R den Strömungswiderstand dar. Dieser ist wiederum abhängig von der Länge l , dem Innenradius r des Rohres und der Viskosität η der Flüssigkeit.

$$R = \frac{8\eta l}{\pi r^4}$$

In die erste Gleichung eingesetzt ergibt sich das Hagen-Poiseuille-Gesetz:

$$Q = \frac{\pi r^4}{8\eta l} \Delta P$$

Hier erkennt man, dass die Stromstärke proportional zur vierten Potenz des Innenradius wächst, so dass bei einer Verdopplung des Rohrdurchmessers die Stromstärke um den Faktor 16 ansteigt. Von den vier genannten Voraussetzungen für die Anwendung des Gesetzes - 1. Laminarität des Strömungsprofils, 2. Homogenität der Flüssigkeit, 3. Starrheit des Rohres, 4. Benetzbarkeit der

Gefäßwände - sind im Gefäßsystem nur die erste in weiten Bereichen und die vierte voll erfüllt.

Bei einer laminaren Strömung bewegen sich in einem zylindrischen Gefäß alle Flüssigkeitsteilchen entlang der Gefäßachse und ordnen sich in Schichten gleicher Geschwindigkeit konzentrisch an. Die an die Gefäßwand grenzende erste Schicht haftet an der Wand, während die zweite sich gegenüber der ersten, die dritte gegenüber der zweiten usw. verschiebt. Es entsteht ein parabolisches Geschwindigkeitsprofil mit Maximum der Geschwindigkeit in der Gefäßachse (siehe Abb.10).

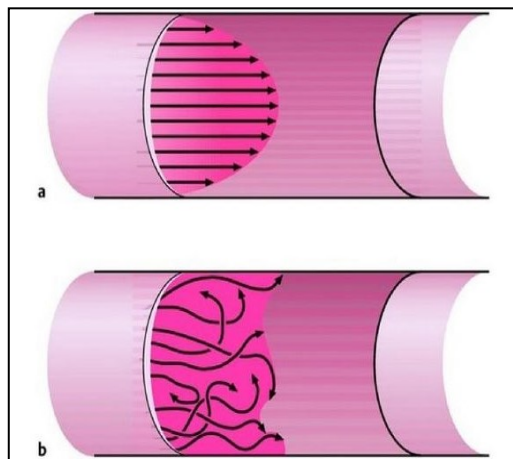


Abbildung 10 Strömungsprofile bei (a) laminarer und (b) turbulenter Strömung (Schmidt & Thews, 1997)

In den meisten Gefäßen ist die Strömung jedoch nicht zeitlich konstant sondern pulsierend. Das Strömungsprofil weicht hierbei während des Pulszyklus stark von der Parabelform einer laminaren Strömung ab und der Strömungswiderstand ist höher als der Wert, der sich aus dem Hagen-Poiseuille Gesetz ergibt. Außerdem erlauben zahlreiche Aufzweigungen des Gefäßbaumes keine Ausbildung eines parabelförmigen Strömungsprofils.

Durch die Elastizität der Gefäßwände steigt bei zunehmendem Druck der Gefäßdurchmesser. Der Strömungswiderstand wird so vom herrschenden Blutdruck abhängig.

Schließlich besteht Blut aus einer Suspension von verformbaren Korpuskeln in einer heterogenen (Nicht-Newton) Flüssigkeit, deren Viskosität inkonstant und

abhängig von Faktoren wie Strömungsgeschwindigkeit und Hämatokrit ist. Dennoch ist das Hagen-Poiseuille-Gesetz von wesentlicher Bedeutung für quantitative Abschätzungen in der Kreislaufphysiologie. So liefert die Abhängigkeit des Strömungswiderstandes von der 4. Potenz des Gefäßradius die Erklärung dafür, dass der größte Teil des Strömungswiderstandes im Kreislauf in den Kapillaren und Arteriolen lokalisiert ist.

1.7.3 Adenosin

Adenosin wird in dem vorliegenden Experiment als Medikament zur regionalen Durchblutungssteigerung benutzt. Im Folgenden sollen Informationen über seinen Aufbau und seine Wirkungen auf molekularer und Organebene beschrieben werden:

Adenosin ist ein Purin-Nukleosid, welches aus der Purinbase Adenin und dem Zucker β -D-Ribose besteht. Seine phosphorylierten Derivate sind die Nukleotide (ATP, ADP, AMP), die ubiquitär in den Körperzellen und Flüssigkeiten vorkommen und eine wichtige Rolle im Energiehaushalt der Zellen darstellen. Das Nukleosid Adenosin ist allerdings auch ein aktives Autakoid, das modulatorische Wirkung auf eine Reihe von Geweben und Zelltypen zeigt. Die Adenosinwirkung wird durch spezifische Adenosinrezeptoren vermittelt, wovon vier Subtypen (A_1 , A_{2a} , A_{2b} , A_3) existieren, die alle G-Protein gekoppelt sind und so zu einer Hemmung oder Förderung der Adenylatzyklase führen. A_1 -Rezeptoren und A_3 -Rezeptoren sind im Allgemeinen an inhibitorische G_i -Proteine gekoppelt, wohingegen A_{2a} - und A_{2b} -Rezeptoren stimulatorische G_s -Proteine aktivieren. Adenosinrezeptoren regulieren somit entweder fördernd oder inhibitorisch die intrazelluläre cAMP Konzentration und davon abhängige Signalwege wie Enzymregulierungen oder Genexpressionen. Die rezeptorabhängige Signaltransduktion durch cAMP veranschaulicht Abbildung 11.

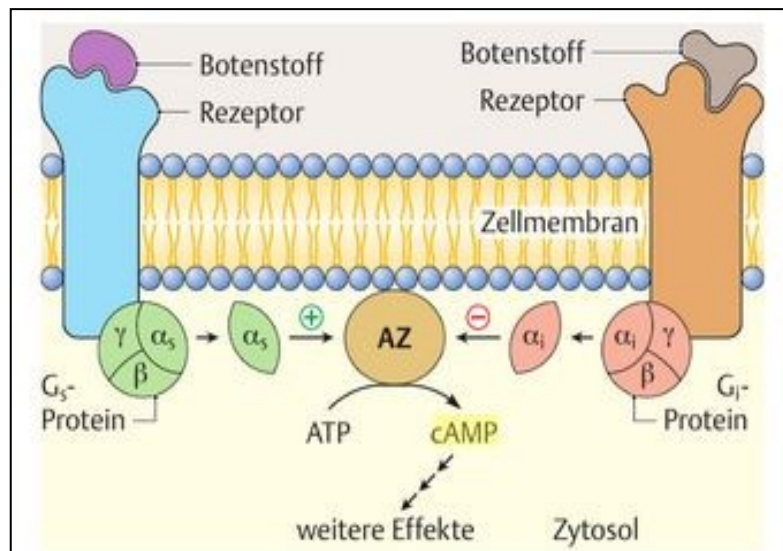


Abbildung 11 G-Protein vermittelte Signaltransduktion durch Hemmung oder Aktivierung der Adenylatzyklase AZ mit nachfolgender Beeinflussung der intrazellulären cAMP-Konzentration (Gekle, et al., 2010)

Andere G-Protein-vermittelte Signaltransduktionen basieren auf der Aktivierung des membranständigen Enzyms Phospholipase C, welches zur Produktion von Inositoltriphosphat und Diacylglycerin führt. Daraus resultieren als Effekte eine erhöhte intrazelluläre Kalziumkonzentration und eine Aktivierung der Proteinkinase C. Dies wiederum beeinflusst letztlich Vorgänge wie epithelialen Stofftransport, Hormonausschüttungen, Zellproliferation, Stoffwechselabläufe, Kaliumkanalvorgänge und Zellteilungsprozesse. Dieser Weg der Signaltransduktion wird in Abbildung 12 veranschaulicht.

Der endgültige Effekt des Adenosins hängt sowohl von den vorhandenen intrazellulären Signalmolekülen als auch von der Dichte der Rezeptorsubtypen mit unterschiedlicher Affinität zum Liganden und der Adenosinkonzentration ab (Schulte, 2004).

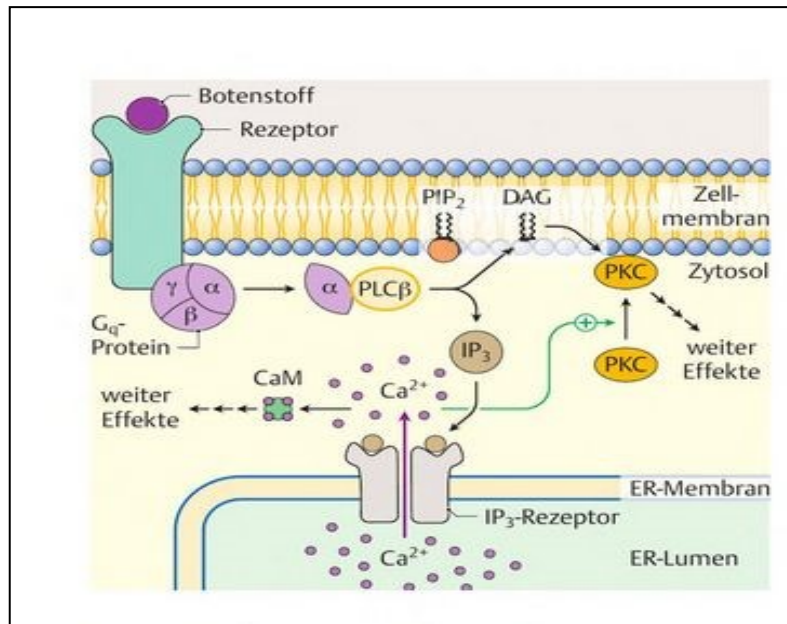


Abbildung 12 G-Protein vermittelte Aktivierung der Phospholipase C (PLC β), welche membranständiges Phosphatidylinositolbispophat (PIP $_2$) in Inositoltriphosphat (IP $_3$) und Diacylglycerin (DAG) spaltet. Daraus resultiert eine Erhöhung der intrazellulären Calciumkonzentration und Aktivierung der Proteinkinase C (PKC) (Gekle, et al., 2010)

Durch diese Abläufe auf molekularer Ebene beeinflusst Adenosin endogen freigesetzt oder als Medikament zugeführt verschiedene Organsysteme.

Im Vordergrund für das vorliegende Experimentvorhaben steht die vasodilatatorische Wirkung des Adenosins in der untersuchten Skelettmuskulatur. Auf die Mechanismen der Adenosin-bedingten Vasodilatation wird in (Mortensen, Saltin, 2014) und (Smits, et al., 1995) näher eingegangen. Hier wird herausgestellt, dass rezeptorabhängige Effekte sowohl an den Endothelzellen als auch glatten Muskelzellen der Gefäße zur Vasodilatation beitragen. Die Wirkung an den Endothelzellen sowohl vom Gefäßlumen als auch vom Interstitium aus bewirkt eine Freisetzung von NO und Prostaglandinen, die wiederum an der glatten Gefäßmuskulatur eine Relaxation und nachfolgend eine Vasodilatation hervorgerufen. Nur ein geringerer Beitrag wird auf eine direkte Adenosinrezeptorstimulation an den glatten Gefäßmuskelzellen zurückgeführt.

Weitere Wirkungen des Adenosins sind am Herz- und Kreislaufsystem eine Blutdrucksenkung, Senkung der Herzfrequenz, Hemmung der kardialen Erregungsleitung und eine verminderte Thrombozytenaggregation. Als Bolus verabreicht wird Adenosin in der Therapie supraventrikulärer

Herzrhythmusstörungen eingesetzt, da es eine AV-Blockade und Erhöhung der Refraktärität am AV-Knoten bewirkt. An den Bronchien wirkt es broncho-konstriktorisch. Im ZNS kommt es durch A1-Rezeptor-vermittelte Effekte an den Synapsen zu einer allgemein-inhibitorischen Wirkung mit Schläfrigkeit, Depression des Atemzentrums, eingeschränkter Mobilität, Analgesie und Erhöhung der Krampfschwelle (Lüllmann, et al., 2010).

Theophyllin antagonisiert den Effekt von Adenosin. Aus dem Blut wird Adenosin rasch durch Aufnahme in die Erythrozyten und Desaminierung eliminiert (Lüllmann, et al., 2010). Daraus resultiert eine kurze Halbwertszeit von unter 10 Sekunden. Weitere Informationen zum Arzneimittel Adenosin finden sich im Gebrauchsinformationsblatt des verwendeten Medikaments (Carinopharm GmbH Elze, Deutschland, 2008).

1.7.4 Kontrastmittel

Für die MR-tomographischen Messungen am Schweinehinterlauf wurden im vorliegenden Versuchsvorhaben zwei Kontrastmittel mit unterschiedlicher Pharmakokinetik verwendet. Mittels Dotarem (Fa. Guerbet, Deutschland), eines verfügbaren niedermolekularen Kontrastmittels, welches Gadotersäure enthält, sollte die Kontrastmittelanflutung und langsamere Extravasation im Zielgewebe untersucht werden, sowie mittels eines intravasal verbleibenden, hochmolekularen Kontrastmittels Gadofosveset-Trinatrium (Vasovist, Fa. Schering, Deutschland bzw. Ablavar, Lantheus Medical Imaging, USA) die arterielle Eingangsfunktion bzw. das Bolusverhalten und das Blutvolumen ermittelt werden.

Beide Kontrastmittel enthalten das paramagnetische Element Gadolinium, welches zu den seltenen Erden zählt und auf Grund von starken, magnetischen Dipolmomenten mit den Dipolmomenten der Protonen eines Gewebes in Wechselwirkung tritt und so eine beschleunigte Relaxation bewirkt. Die Stärke der Verkürzung der Relaxationszeit ist proportional zur Kontrastmittelkonzentration und wird durch dessen Relaxivität beschrieben. Die Relaxivität ist ein Maß für die Wirkungsstärke eines Kontrastmittels und damit seiner Signalwirkung.

Da Gadolinium toxisch ist, wird es, um es für den Menschen verträglich zu machen, an Chelat-Liganden gebunden. Die Chelat-Liganden bestehen aus

organischen Salzkomplexen und sind hauptverantwortlich für die Kinetik des verwendeten Kontrastmittels.

Im Falle von Dotarem liegt ein Gadolinium-Ion in komplexierter Form mit dem Komplexbildner 1,4,7,10-Tetraazacyclododecan-1,4,7,10-tetraessigsäure (DOTA) vor. Da Gd-Dota aufgrund des Komplexbildners einfach negativ geladen ist enthält die Lösung als Ladungsausgleich noch das einfach positiv geladene Zuckermonomer Meglumin. Dotarem ist ein unspezifisches Kontrastmittel, welches sich in allen Organen außerhalb des ZNS anreichert. Nach Injektion breitet es sich intravasal im Körper aus und tritt dann rasch in den Extrazellularraum über. Von dort gelangt es nicht in die Zellen, da es hydrophil ist und Zellmembranen (und die Bluthirnschranke) nicht passieren kann. Die Elimination geschieht unverändert über die Nieren entsprechend der glomerulären Filtrationsrate. Die Ausscheidung ist rasch, da Dotarem nur eine geringe Albuminbindung besitzt. Die Verteilungshalbwertszeit im menschlichen Organismus beträgt 2-3 Minuten, die Eliminationshalbwertszeit etwa 90 Minuten. (Guerbet, 2008) Bei 0,5 molarer Lösung beträgt die Dosierung 0,2 ml/kg Körpergewicht (KG).

Gadofosveset-Trinatrium (Vasovist, Fa. Schering, Deutschland bzw. Ablavar, Lantheus Medical Imaging, USA) im Gegensatz zu Dotarem, zählt zu den intravaskulären Kontrastmitteln. Diese diffundieren gar nicht oder nur verzögert durch Kapillarwände und verweilen überwiegend intravaskulär. Chemisch stellt es eine Formulierung eines mit einer Diphenyl-Cyclohexylphosphat-Gruppe substituierten Gadolinium-Diethylen-Triamin-Pentaacetat-Chelates (Gadofosveset-Trinatrium) dar. Charakteristisch ist eine reversible, 87%ige Bindung an humanes Albumin, die für die lange Verteilungshalbwertszeit von ca. 0,48 Stunden und die lange Eliminationshalbwertszeit von ca. 16 Stunden verantwortlich ist. Die gebrauchsfertige Lösung enthält 0,25 Mol/l Gadolinium und wird in einer Dosis von 0,12 ml/kgKG entsprechend 0,03 mmol/kgKG verabreicht (Lantheus Medical Imaging, USA, 2013) (Schering AG Berlin, Deutschland, 2005) (Froehlich, 2009). Vasovist wurde aus kommerziellen Gründen 2011 vom Markt genommen, so dass z.Zt. keine Zulassung gemäß EMA (European Medicines Agency, Europäische Arzneimittelagentur) für den Gebrauch innerhalb der Europäischen Union besteht. Weitere Angaben zu den verwendeten Kontrastmitteln und deren unerwünschter Nebenwirkungen finden sich in den zitierten Fachinformationen.

2 Material und Methoden

2.1. Versuchstiere

Als Versuchstiere wurden Schweine der Deutschen Landrasse verwendet. Bezüglich der Gründe zur Auswahl des Schweins als Versuchstier sei an dieser Stelle auf die Einleitung verwiesen. Die Tiere stammten aus landwirtschaftlicher Produktion und wurden mindestens eine Woche vor Versuchsbeginn in das Zentrale Tierlabor des Universitätsklinikum Essen transportiert. Sie erhielten dort ausreichend Wasser und normales, in der Schweinemast übliches Futter (ssniff V4133 – 4mm Pellets, Fa. ssnif Spezialdiäten GmbH, Deutschland). Durch eine klinisch-tierärztliche Untersuchung wurde sichergestellt, dass die Tiere gesund waren und keine Krankheiten, die den Versuchsablauf beeinträchtigen könnten, aufwiesen. Es wurde besonders darauf geachtet, dass die Hinterläufe der Versuchstiere unverletzt waren und keine Funktionsbeeinträchtigung oder Missbildung vorlag. Ausschlusskriterien für die Durchführung eines Experimentes wären große infizierte Wunden im Bereich der Hinterläufe der Schweine, Missbildungen, Frakturen oder Fehlstellungen gewesen. Dies lag bei keinem der untersuchten Versuchstiere vor. Die Regeln des Tierschutzes wurden berücksichtigt. Den Tierversuchen ging ein umfangreiches Antragsverfahren gemäß §9 Abs. 1 des Tierschutzgesetzes für den betreffenden Tierversuch voraus, welches durch das Landesamt für Gesundheit und Soziales in NRW unter der Antragsnummer 84-02.04.2012A208 registriert und genehmigt wurde. Die an den Tierversuchen beteiligten Personen wiesen die dafür erforderlichen Qualifikationen gemäß Tierschutzgesetz auf. Es wurden in dem vorliegenden Versuchsvorhaben insgesamt 14 Schweine untersucht. Sie waren zwischen 4,5 und 5 Monate alt und wogen zwischen 56 kg und 67,5 kg (Mittelwert 60,8 kg).

2.2 Allgemeine Versuchsbeschreibung

Die ersten acht Experimente dienten der Optimierung des Ablaufes, des chirurgisch-anästhesiologischen Procedere, sowie der Justage der MRT-Messungen. Als entscheidende Optimierung des Versuchsablaufs ist der Wechsel des Operationsgebietes vom Vorder- zum Hinterlauf des Schweines herauszustellen. Aufgrund der Enge des Operationssitus am Vorderlauf, welche

die Implantation des Arterienkatheters und der Ultraschallsonde behinderte, und des geringen Durchmessers der A. axillaris wurde aus Gründen der Messsicherheit und Messgenauigkeit entschieden, am Hinterlauf zu operieren. Des Weiteren waren zur Präparation ausgiebige Nervendurchtrennungen im Bereich des Plexus brachialis notwendig, die einen nicht kalkulierbaren Einfluss auf die Autoregulation des Gefäßtonus im Versorgungsgebiet der A. axillaris bedingen konnten. Diese Problematik bestand beim Zugang zur A. femoralis nicht.

In den ersten Versuchen wurden ein Versuchsprotokoll und eine Material-Checkliste erstellt, anhand derer die folgenden Experimente durchgeführt wurden. Der Transport der narkotisierten Tiere ins MRT bedurfte der genauen Planung, da zwischen OP-Saal und Untersuchungseinheit ein längerer Weg von ca. 500 m oberirdisch und durch andere öffentlich zugängliche Gebäude zurückgelegt werden musste. Weiterhin wurden im MRT die Messparameter festgelegt (MRT-Sequenzen, Kontrastmittel-Dosis) und die Reproduzierbarkeit der Perfusionstechnik und Adenosinabgaben ermittelt. Zum Versuchsende wurden die Versuchstiere durch Vertiefung der Narkose und Gabe von T61 (Embutramid, Mebezoniumiodid, Tetracainhydrochlorid, Fa. MSD Tiergesundheit, Deutschland) getötet.

Einmalig musste aufgrund einer Verletzung der rechten Femoralarterie und Femoralvene die Versuchsanordnung am linken Hinterlauf vorgenommen werden. Die Arteria und Vena femoralis communis mussten auf der rechten Seite mit Umstechungsligaturen unterbunden werden, um eine Blutstillung herbeizuführen. Die Wunde darüber wurde per Hautnaht verschlossen. Eine Nachblutung trat nicht auf.

Im Folgenden soll der standardisierte Versuchsablauf eines Schweineexperimentes dargestellt werden. Der Ablauf eines ca. achttündigen Experimentes gliedert sich in sechs aufeinander folgende Phasen. Er beinhaltet 1. die Prämedikation des Tieres in den Stallungen des Zentralen Tierlabors, 2. die Narkoseeinleitung, 3. den chirurgischen Part im OP-Trakt, 4. den Transfer ins MRT, 5. die eigentliche Messphase im MRT und 6. schließlich den Rücktransport in das Zentrale Tierlabor samt Entsorgung des Tierkadavers. Für den komplikationslosen Ablauf der Experimente war es hilfreich, auf die in den letzten

15 Jahren gesammelten Erfahrungen am Universitätsklinikum Essen in tierexperimenteller Methodik und Organisation der Abläufe im MRT zurückzugreifen. Dafür sei beispielhaft eine Arbeit zur optimalen Narkoseführung bei zeitaufwendigen Schweineexperimenten mit kardiovaskulären Interventionen und nachfolgenden MRT-Untersuchungen angeführt, welche Anästhesiezeiten von 6-10 Stunden erfordern (Kaiser, et al., 2007). Die in der Arbeit verwendeten Medikamente werden in dieser Arbeit ebenfalls zur Narkoseführung benutzt.

2.3 Prämedikation und Narkoseeinleitung

Die Schweine befanden sich bei Gabe der Prämedikation in den Stallungen des Zentralen Tierlabors des Universitätsklinikums Essen. Die Verabreichung in gewohnter Umgebung sollte für die Tiere unnötigen Stress und dessen Einfluss auf Narkosevorbereitungen und Narkoseführung vermeiden sowie Interferenzen durch einen möglicherweise erhöhten Sympathikotonus unterbinden. Seit dem Vorabend des Versuchstages bekamen die Schweine kein Futter mehr bei freiem Zugang zu Wasser. Dies sollte zu Versuchsbeginn einen ausreichenden Hydratationszustand gewährleisten. Den Tieren wurden folgende Medikamente intramuskulär injiziert: 30 mg/kg Ketamin (Ketamin 10%, Ceva Tiergesundheit GmbH, Germany), 2 mg/kg Azaperon (Stresnil, Janssen-Cilag GmbH, Deutschland) und 0,02-0,05 mg/kg Atropinsulfat (Atropinsulfat, B. Braun Melsungen AG, Deutschland). Ca. 10-15 Minuten nach Gabe der Prämedikation konnten die Versuchstiere mit einem Handwagen in den OP-Saal für Großtiere, welcher sich im selben Gebäude befand, transportiert werden.

Nach Verbringung des Schweines auf den OP-Tisch erfolgte in Bauchlage das Legen einer 20G-Venenverweilkanüle (Vasofix-Safety, Fa. Braun Melsungen AG, Deutschland) in eine geeignete Ohrvene. Die Kanüle wurde fixiert und die Narkoseeinleitung durch intravenöse Gabe von 10 mg/kg Propofol (Propofol-ratiopharm, Fa. Ratiopharm, Deutschland) gestartet. Es erfolgte nun die orotracheale Intubation mittels eines speziellen Spatels, durch den das Einführen des Tubus (Hi-Contour cuffed tracheal tube, ID 8.0, Fa. Mallinckrodt, Irland) in die Trachea erleichtert wurde. Nach Intubation und Blockung des Cuffs erfolgte die Fortführung der Narkose durch kontinuierliche Gaben von 0,015 mg/kg Fentanyl

(Fentanyl Citrat Lösung 3.925 ml/50ml, Zentralapotheke Universitätsklinikum Essen, Deutschland), Midazolam (Midazolam-Injektionslösung 0,5%, Zentralapotheke Uniklinikum Essen, Deutschland) sowie 4-7 mg/kg/KG Propofol (Propofol-ratiopharm, Fa. Ratiopharm, Deutschland) mittels Perfusoren. Anschließend wurden die Schweine in Rückenlage verbracht und auf dem OP-Tisch mittels Mullbinden, die in Schlaufen an den Gliedmaßen und am OP-Tisch befestigt wurden, fixiert. Die Beatmung des Schweines erfolgte wie weiter unten ausgeführt. Zur Flüssigkeitssubstitution wurde als Vollelektrolytlösung Jonosteril (Fa. Fresenius Kabi, Deutschland) verabreicht. Einen bildlichen Eindruck von der Situation im Großtier-OP gibt die folgende Abbildung 13.

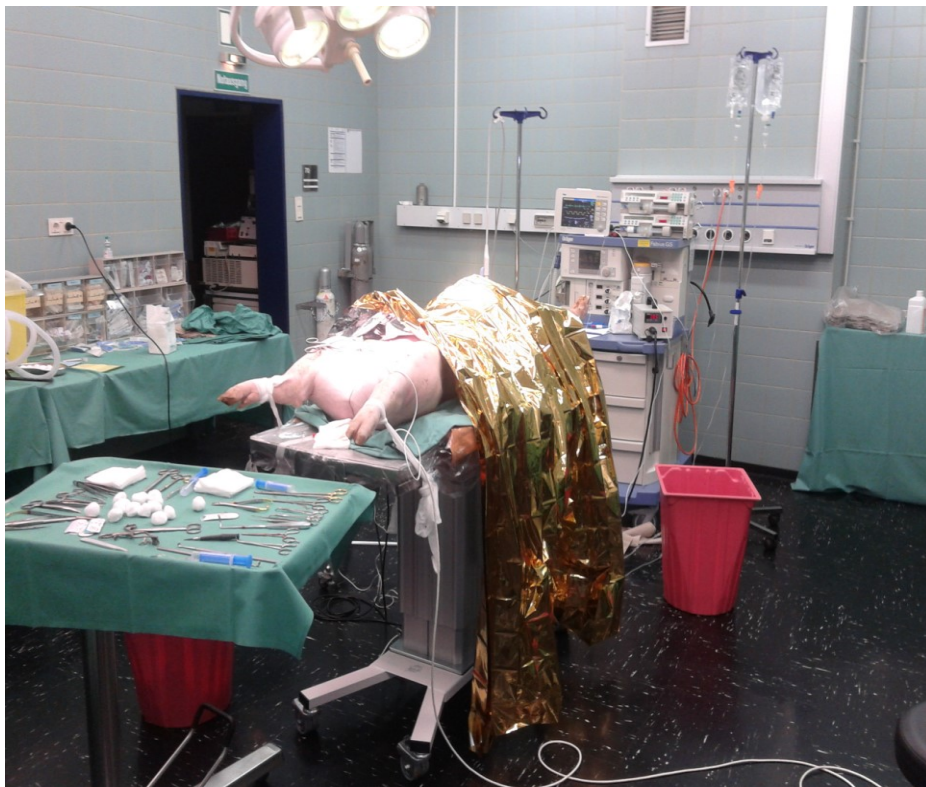


Abbildung 13 Aufbau im Großtier-Operationssaal des Zentralen Tierlabors

2.4 Narkoseführung

Im weiteren Verlauf der Narkose erfolgte die Beatmung der Versuchstiere volumenkontrolliert mittels des Beatmungsgerätes „Fabius“ (Fa. Dräger, Deutschland) mit einem Atemzugvolumen von 10 ml/kg Körpergewicht und einer Frequenz von 12-14/min, so dass die Tiere normoventiliert wurden. In der Kapnographie wurde ein expiratorischer CO₂-Partialdruck von 35-40 mmHg

angestrebt. Zum Erreichen einer peripheren, an der Zunge mittels Pulsoxymeter gemessenen Sauerstoffsättigung (SaO_2) von mehr als 95%, wurden die Tiere mit einem FiO_2 von 0,5 und einem positiven endexpiratorischen Druck (PEEP) von 5 mbar beatmet. Die Narkose wurde mittels TIVA (totale intravenöse Anästhesie) mit Propofol, Midazolam, Fentanyl wie genannt aufrechterhalten. Zur Narkoseüberwachung erfolgten die kontinuierliche Messung des endexpiratorischen CO_2 -Gehaltes (P_{ECO_2}) mittels Respirator, die Messung der Sauerstoffsättigung (SaO_2) im Blut mittels Pulsoxymeter und die Bestimmung der Pulsfrequenz via Pulsoxymeter. Zusätzlich wurde noch ein 3-Elektroden-EKG im Thoraxbereich installiert.

2.5 Chirurgisches Procedere

Alle am Versuchstier durchgeführten chirurgischen Maßnahmen wurden unter aseptischen Kautelen im Großtier-Operationssaal des Universitätsklinikums Essen vorgenommen (siehe Abb. 13).

2.5.1 ZVK-Anlage

In Rückenlage erfolgte zunächst an der rechten Halsseite des Schweines die Anlage eines dreilumigen zentralen Venenkatheters aus Polyurethan (ARROWg⁺ard Blue, Fa. Arrow, Germany). Dieser diente der späteren systemischen Kontrastmittelinjektion und sicheren Applikation der Narkosemedikamente und Infusionslösungen. Durch eine ca. 5 cm lange Längsinzision medial des M. brachiocephalicus über dem Sulcus jugularis wurden zunächst Haut und Platysma durchtrennt. Anschließend erfolgte die weitere Präparation in die Tiefe und das Aufsuchen der Vena jugularis externa zwischen M. brachiocephalicus und M. sternomastoideus. Die Vene wurde mit Ligaturen (Vicryl Stärke 3-0, Fa. Ethicon, Deutschland) zentral und peripher angezügelt. Dann, nach Durchführung der Venotomie mit der Präparierschere, wurde der Venenkatheter nach zentral über eine Länge von ca. 10 cm vorgeschoben. Dieser wurde zuvor mittels 0,9%-iger Kochsalzlösung entlüftet und auf Funktionalität hin überprüft. Es wurde bei der Platzierung des Katheters darauf geachtet, dass in

den EKG-Ableitungen keine Herzrhythmusstörungen auftraten. Dann erfolgte die Fixierung des Katheters durch Knüpfen der vorgelegten Venenzügel. Anschließend wurde zur Durchgängigkeitskontrolle Blut aspiriert und der Katheter anschließend mit isotoner Kochsalzlösung gespült und geblockt. Letztlich erfolgte der Wundverschluss durch fortlaufende Hautnaht und eine zusätzliche Nahtfixierung des zentralen Venenkatheters im Hautniveau der rechten Halsseite (Ethilon II, Stärke 4-0, Fa. Ethicon, Deutschland).

2.5.2 Anlage eines suprapubischen Blasendauerkatheters

Aus hygienischen Gründen sowie zum Monitoring der Diurese wurde dem Versuchstier ein suprapubischer Blasendauerkatheter operativ angelegt. In der Medianlinie wurde dazu im Unterbauch in Höhe der Harnblase eine Minilaparotomie über eine Länge von ca. 5 cm durchgeführt. Nach Eröffnung der Abdominalhöhle wurde die Harnblase hervorluxiert und eine Tabaksbeutelnaht (Mersilene, Stärke 2-0, Fa. Ethicon, Deutschland) an geeigneter Stelle im Bereich des Blasendaches vorgelegt. Die Harnblasenwand wurde dann dort inzidiert und ein 16 Ch. Silikon-Nelatonkatheter (Fa. B. Braun Melsungen, Deutschland) in die Harnblase eingeführt. Dieser wurde mit 10 ml isotonischer Kochsalzlösung geblockt und unter Zuziehen und Verknoten der vorgelegten Tabaksbeutelnaht in der Blase fixiert. Anschließend wurde die Blase in das Abdomen reponiert. Der Verschluss der Bauchhöhle erfolgte mittels fortlaufender allschichtiger Naht der Rektus-Muskulatur samt Hüllfaszien und des Peritoneums (PDS II, Stärke 2-0, Fa. Ethicon, Deutschland) unter Aussparung einer Durchtrittsstelle für den Blasen-katheter. Daran schloss sich die fortlaufende Hautnaht an (Ethilon II, Stärke 4-0, Fa. Ethicon, Deutschland), ebenfalls unter Aussparung einer Lücke für den Katheterdurchtritt.

2.5.3 Implantation der Flusssonde und des arteriellen Katheters

Nach oben genannten Vorbereitungseingriffen wurde am abgespreizten Hinterlauf des Schweines in Rückenlage zunächst die A. saphena palpiert und in ihrem Verlauf markiert. Die leicht zugängliche A. saphena sollte als Leitstruktur zur Detektion der in der Tiefe des Schenkelkanals verlaufenden A. femoralis dienen. Im Bereich der Markierung wurde dann die Haut inzidiert und die Arteria saphena, die hier sehr oberflächlich verläuft, dargestellt. Von dort aus wurde die Arterie nach proximal verfolgt. Hierbei stieß man auf die den M. gracilis und M. sartorius verbindende Aponeurose. Diese wurde teils scharf teils stumpf getrennt, so dass die A. femoralis im nun freiliegenden distalen Schenkelkanal dargestellt werden konnte. Von hier aus wurde die Arterie weiter nach proximal bis zur Austrittsstelle aus der Abdominalhöhle verfolgt und freigelegt. Hierzu war der Einsatz mehrerer Wundspreizer (nach Mayo-Adams, nach Beckmann) erforderlich, da die Arterie sehr tief in Relation zum Wundrand verläuft und von kräftiger Muskulatur umgeben ist. Bei der Präparation wurde penibel darauf geachtet, möglichst keine Nervenstrukturen oder Gefäßstrukturen zu verletzen. Nach minutiöser Freilegung der A. femoralis wurde diese in Seldinger-Technik kanüliert und ein MR-tauglicher Polyethylenkatheter (Arterial Leader Cath, Fa. Vygon, Frankreich) in die Arterie eingeführt. Der Katheter wurde vor Implantation auf eine Gesamtlänge von 6 cm gekürzt und anschließend nach proximal vorgeschoben. Ein Kürzen war erforderlich, um eine Katheterfehlage proximal des Abganges des A. femoralis profunda und so einen Verlust des injizierten Adenosins in andere Gefäßbereiche zu vermeiden. Anschließend wurde der Katheter mit Nähten in der Wunde fixiert (Ethilon II, Stärke 4-0, Fa. Ethicon, Deutschland), um eine Dislokation zu unterbinden. An den Katheter wurde ein mit heparinhaltiger Kochsalzlösung entlüfteter Infusionsschlauch angeschlossen, an dessen Ende sich ein Rückschlagventil befand. Durch Schaffung einer subcutanen Tunnelierung proximal der Wunde wurde dieser Infusionsschlauch dann auf kürzestem Weg aus der Wunde ausgeleitet. Dies sollte eventuell entstehende Bildartefakte durch den Schlauch vermeiden. Das abschließende nochmalige „Blocken“ des gesamten Kathetersystems mit heparinhaltiger Kochsalzlösung sollte einer Okklusion durch Blutthromben vorbeugen.

Nach Platzierung des Arterienkatheters erfolgte distal davon in einem Abstand von ca. 1 cm das Einbringen der Ultraschallmesssonde (6RB Flusssonde, Transonic Systems Inc., USA). Diese wurde um das Gefäß herum platziert und die Position durch Arretierung einer Schraube am Sondenkopf gesichert. Das zum Sondenkopf führende Kabel wurde wie der Katheterschlauch auf kürzestem Wege ebenfalls durch subcutane Tunnelierung proximal der Wunde ausgeleitet. Die Sicherung der Sondenlage geschah durch situative Nähte mit dem umgebenden Gewebe in der Tiefe der Wunde. Die Wunde wurde anschließend mit Ultraschallgel gefüllt und mittels fortlaufender Hautnaht (Ethilon II, Stärke 4-0, Fa. Ethicon, Deutschland) verschlossen.

Die Versuchsanordnung im Bereich der Arteria femoralis zeigt Abbildung 14.

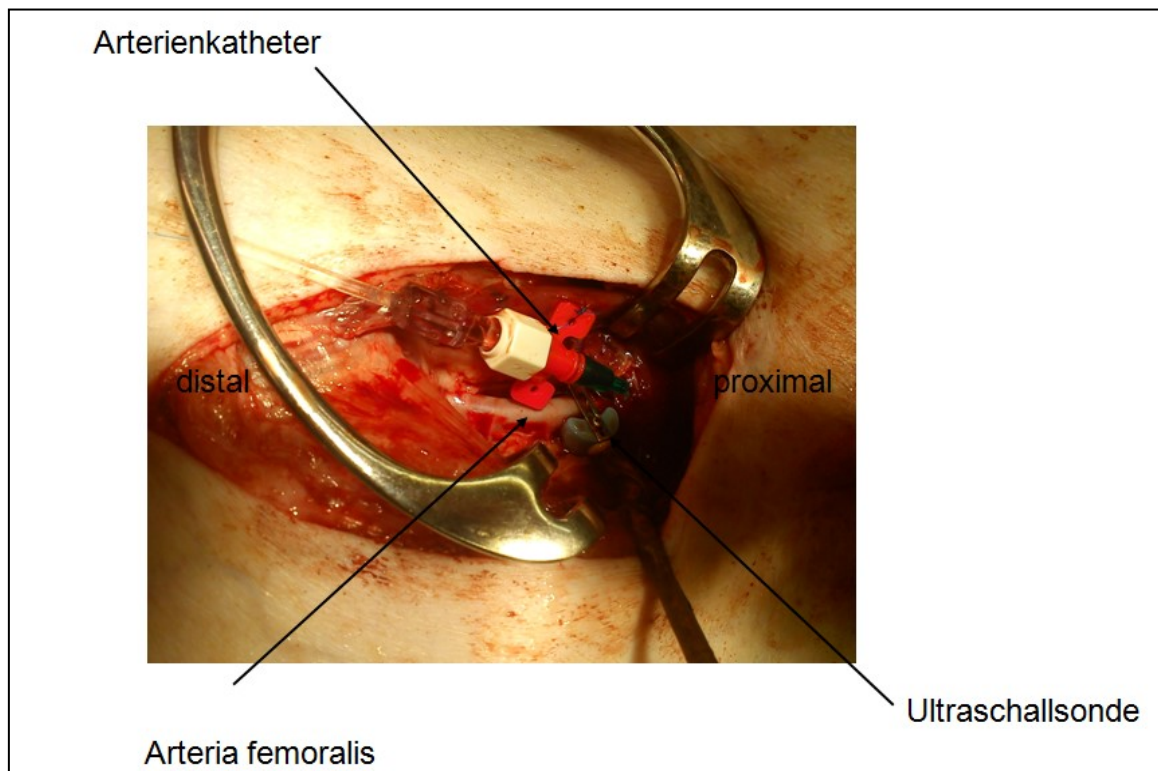


Abbildung 14 Versuchsanordnung im Bereich der A. femoralis am Hinterlauf des Versuchstieres

Die Flussmessung mit der Ultraschallsonde basiert auf dem Ultraschall-Doppler-Prinzip. Aus Laufzeitunterschieden eines Ultraschallsignals über eine gegebene Distanz zwischen einer mit und einer gegen die Flussrichtung gerichteten Schallwelle wird der Blutfluss berechnet. Die Messmethode ist unabhängig von der Größe des Gefäßes und benötigt zum Anlegen des Flussmesskopfes keine

Konstriktion der Arterie. Der Messkopf der Sondenapparatur besteht aus zwei Ultraschallwandlern und einem gegenüberliegenden akustischen Reflektor. Das zu messende Gefäß liegt zwischen Ultraschallwandlern und Reflektor. Über einen gleichmäßig breiten (quaderförmigen) strahldivergierenden Ultraschallkegel wird das gesamte Fenster des Sensors unter Einschluss des vollen Gefäßquerschnittes beschallt. Über die zwei Ultraschallwandler wurden das Gefäß und das umliegende Gewebe sowohl stromaufwärts als auch stromabwärts von einem Schallimpuls durchdrungen, und die benötigte Zeit vom Ultraschallwandler zum Reflektor und wieder zurück berechnet. Die für diesen Vorgang erforderliche Zeit ist abhängig von dem sich im Gefäß bewegenden Blut. Gemessen wurde zunächst die Frequenzverschiebung unter Nutzung des Doppler-Effektes, der in jedem Punkt des Schallfensters ein Maß für die Geschwindigkeit des Blutes ist. Dann erfolgt die Integration des erfassten Strömungsprofils über das Schallfenster und dadurch die Feststellung der durchströmten Fläche inklusive der vektoriellen Integration. Aus den ermittelten Werten ließ sich anschließend der Blutfluss bzw. die Durchblutung des Hinterlaufs bestimmen. Zur Funktionsweise der Ultraschallmessung sei auch auf die Produktbeschreibung des Herstellers verwiesen (Transonic Systems Inc., 1997).

2.6 Transport ins MRT

Da sich die MRT-Abteilung ca. 500 m entfernt vom Zentralen Tierlabor in einem anderen Institutsgebäude auf dem Gelände des Universitätsklinikums Essen befand, war ein Transport des Versuchstieres und der für das Versuchsvorhaben benötigten Ausrüstung erforderlich. Da kein unterirdisches Tunnelsystem vorlag, musste der Transport des Schweines mittels eines blickdichten Handwagens oberirdisch bewerkstelligt werden. Das Tier wurde dabei je nach Witterung gegen Unterkühlung oder Nässe durch spezielle Decken und Folien geschützt. Aufgrund der fragilen Anordnung des Ultraschallsensors und des Arterienkatheters in der Wunde musste beim Transport besonders auf die Vermeidung von Erschütterungen durch unebenes Gelände geachtet werden. Im Handwagen befanden sich auch die zur Aufrechterhaltung der Narkose notwendigen Perfusoren für Midazolam, Fentanyl und Propofol. Die Beatmung des Versuchstieres musste während des Transportes verändert durchgeführt werden,

da das im OP verwendete Narkosegerät nicht eingesetzt werden konnte. Zur Aufrechterhaltung der Oxygenierung wurde jetzt ein transportabler Respirator (Oxylog, Fa. Dräger, Deutschland) sowie eine transportable Sauerstoffflasche benutzt. Der FiO_2 betrug durch die Funktionsweise des Gerätes bedingt ca. 0,6. Hypoventilationen ließen sich nach Ankunft im MRT anhand der gemessenen peripheren Sauerstoffsättigung und des endexpiratorischen CO_2 -Gehaltes bei keinem Versuchstier feststellen.

2.7 Aufbau im MRT

Aufgrund der Funktionsweise des MRT musste eine räumliche Trennung der zur Narkoseführung und -überwachung benötigten metallhaltigen Geräte und des Versuchstieres vorgenommen werden. Dies betraf das Oxylog-Gerät, die Perfusoren, die Transonic-Messeinheit zur Blutflussbestimmung sowie ein Gerät zur kapnographischen Bestimmung des endexpiratorischen CO_2 -Gehaltes in der Ausatemluft (Vamos, Fa. Dräger, Deutschland). Entsprechende Zuleitungen zu den Geräten mussten verlängert und durch eine Wandöffnung in den benachbarten Untersuchungsraum zum Versuchstier geführt werden. Der Beatmungsschlauch z.B. hatte eine Gesamtlänge von 6 m. Von besonderer Bedeutung war daher die kontinuierliche kapnographische Kontrolle der Beatmung. Diese wurde mit dem Oxylog-Respirator so eingestellt, dass kontinuierlich ein endexpiratorischer CO_2 -Gehalt von 35-45 mmHg vorlag. Im Untersuchungsraum selbst befanden sich eine MRT-taugliche Monitoringseinheit (Veris, Fa. Medrad, Deutschland) für die Überwachung der Herzfrequenz, des EKG und der peripheren Sauerstoffsättigung sowie der automatische Injektor für die Kontrastmittelapplikation (Spectris Solaris, Fa. Medrad, Deutschland), welcher vom Steuerungsraum aus automatisch betätigt werden konnte. Für Infusionsgaben standen im Untersuchungsraum MRT-taugliche Infusionsständer zur Verfügung. Im Steuerungsraum wurde ein Standard-Netbook an das Transsonic-Messgerät zur kontinuierlichen Datenaufzeichnung der Blutflusswerte angeschlossen. Dieses verwendete als Programm LabView 2012 (National Instruments Corporation, USA), eine A/D Wandlerkarte (Ni USB-6211, National Instruments Corporation, USA) sowie als Betriebssystem Windows XP (Microsoft

Corporation, USA). Für die Durchführung der MR-Tomographien stand ein 1,5 Tesla Scanner zur Verfügung (Siemens Magnetom Aera 1,5 T), in dem das Schwein in Rückenlage mit Lagerungskeilen positioniert wurde. Aus hygienischen Gründen wurden die Auflageflächen und Keile mit Folien überspannt, um Verschmutzungen durch Körperflüssigkeiten vorzubeugen. Gelagert wurde das Schwein auf einer 32 Kanal-RF-Spule, die sich im Untersuchungstisch befand. Eine Oberflächenspule (18-RF-Kanäle) wurde über den Hinterläufen platziert.

Die folgenden Abbildungen zeigen einen Bildausschnitt aus dem MRT-Steuerungs- und Untersuchungsraum.

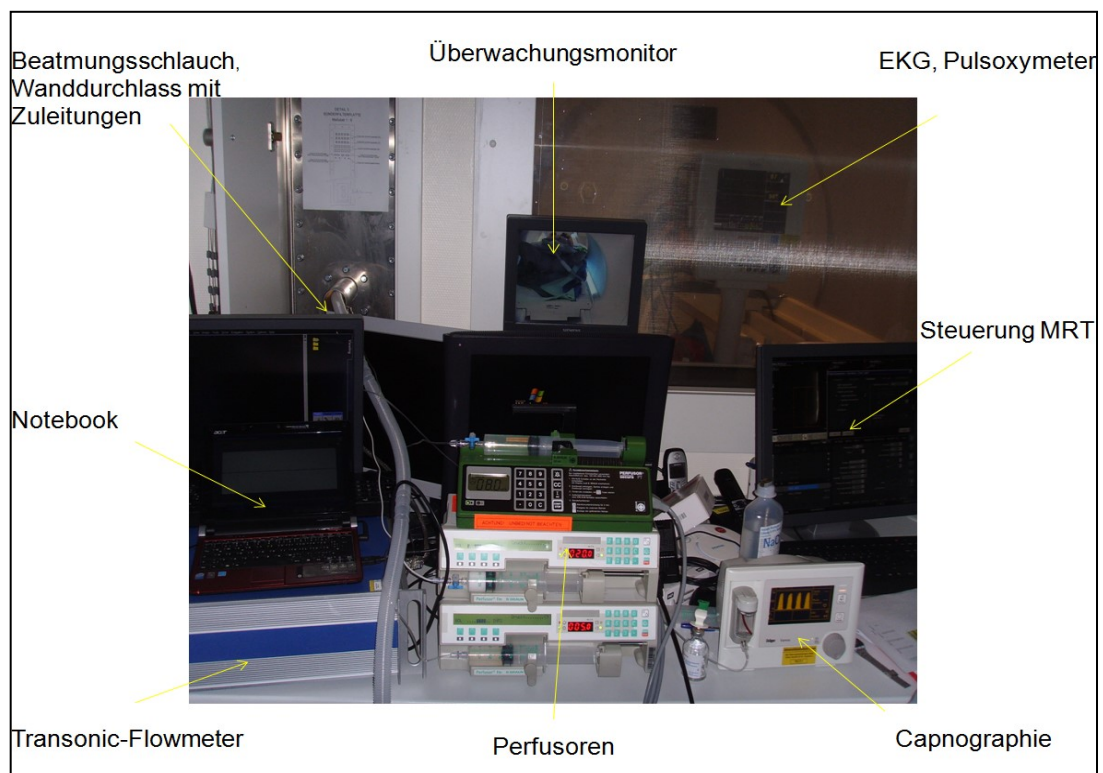


Abbildung 15 Aufbau im MRT-Steuerungsraum

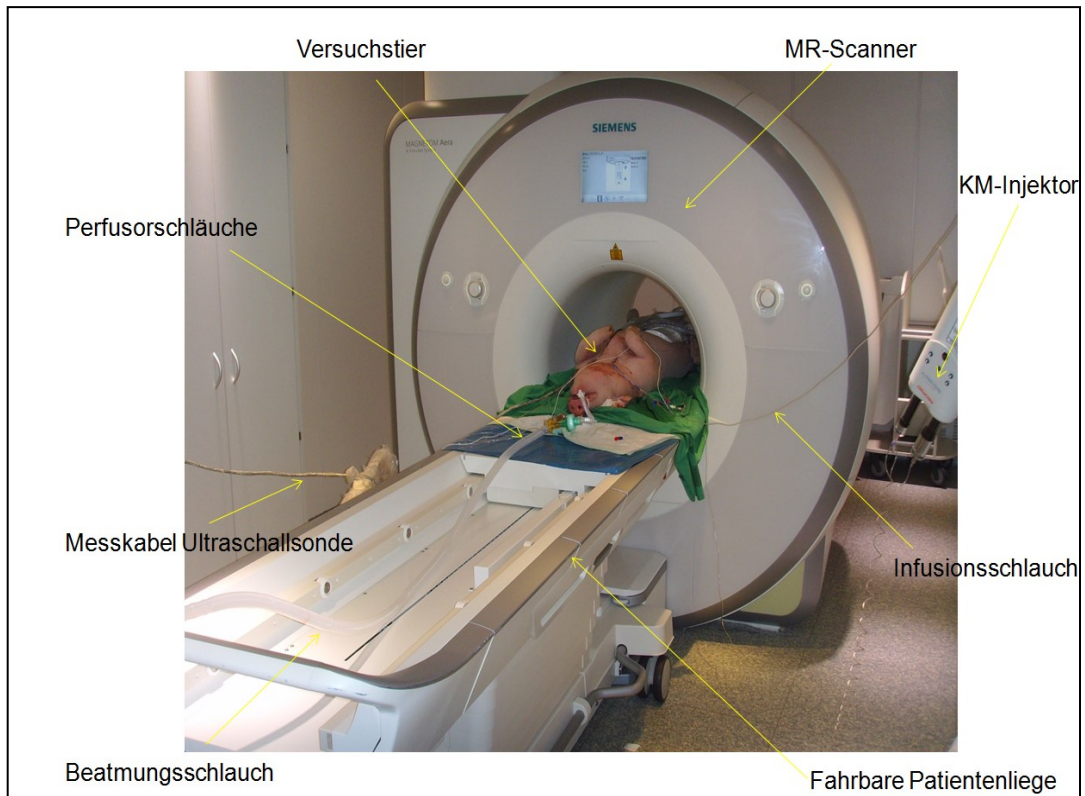


Abbildung 16 Aufbau im Untersuchungsraum des MRT

2.8 Protokoll der Messungen im MRT

Der Ablauf der Messungen im MRT wurde nach folgendem Protokoll durchgeführt:

1. Zunächst wurden anatomische Bilder des zu untersuchenden Hinterlaufes ohne Kontrastmittel gewonnen.
2. Ausgehend vom Ruhefluss oder einem durch Adenosin gegebenem gesteigerten Perfusionsniveau wurden dynamische Messungen mit aufeinander folgender systemischer Gabe 1. eines niedermolekularen (Dotarem, Fa Guerbet, Deutschland) und 2. eines hochmolekularen Kontrastmittels (Vasovist, Fa. Schering, Deutschland bzw. Ablavar, Lantheus Medical Imaging, USA) durchgeführt. Durch die unterschiedliche Verteilungskinetik der Kontrastmittel sollte die Kontrastmitteldynamik innerhalb des untersuchten Gewebes bestimmt werden. Die Blutflusssteigerungen wurden durch intraarterielle Infusion des Vasodilatators Adenosin (Adenosin Life Medical, Fa. Carinopharm, Deutschland) vorgenommen. Die Dosierung des Adenosins

richtete sich dabei nach dem angestrebten Blutfluss. Dies beruhte auf der Beobachtung, dass bei gleichen Adenosindosen die Versuchstiere unterschiedliche Perfusionssteigerungen zeigten.

3. Diese dynamischen Messungen wurden auf 2 weiteren Perfusionsniveaus wiederholt, so dass bei jedem Experiment Messungen dreier Perfusionsniveaus vorgenommen wurden. Ein stabiler Blutfluss unter Adenosingabe wurde nach ca. 5 Minuten erreicht, sodass die Messung gestartet werden konnte. Von der jeweiligen Ausgangsperfusionstufe ausgehend, wurden 2 weitere Perfusionsstufen für die MR-Messungen eingestellt, entweder mit höherem oder niedrigerem Fluss. Es wurde stets darauf geachtet, dass über alle Experimente verteilt eine gleichmäßige Verteilung der eingestellten Perfusionsstufen auftrat. So sollten systematische Fehler durch Auswahl der Sequenz an Perfusionsstufen und Fehler bezüglich einer Signalsättigung durch Kontrastmittelakkumulation vermieden werden.
4. Abschließend wurde das Versorgungsgebiet der Femoralarterie durch Erstellung von Subtraktionsbildern von dynamischen Bildern nach lokaler Kontrastmittelapplikation von Dotarem mit anatomischen Bildern ohne Kontrastmittelapplikation bestimmt.

Die Kontrastmittelgaben in den einzelnen Messphasen wurden jeweils durch den oben genannt Injektor automatisch durchgeführt. Das niedermolekulare Kontrastmittel Dotarem (Dosis 0,2 ml/kg) wurde mit einer Infusionsrate von 0,5 ml/s mit nachfolgender Spülung von 20 ml isotoner Kochsalzlösung mit gleicher Infusionsrate appliziert. Vasovist bzw. Ablavar (Dosis 0,1 ml/kg) wurde mit einer Rate von 5 ml/s und nachfolgender Spülung mit 20 ml isotoner Kochsalzlösung mit gleicher Infusionsrate verabreicht. Die lokale Gabe von Dotarem zur Erstellung der Differenzbilder erfolgte mit einer Rate von 0,05 ml/s bei der Dynamikmessung mit einer Dosierung von 0,4 ml/kg.

2.9 MRT Technik

Zur Bestimmung des Untersuchungsbereiches wurden zunächst T1-gewichtete Bilder mit und ohne Fettsuppression sowie T2-gewichtete Bilder erstellt. Dazu wurde eine axiale T1-gewichtete Turbospinechosequenz (TSE) mit Fettsuppression in der Transversalebene mit folgenden Parametern benutzt: Repetitionszeit TR = 625 ms, Echozeit TE = 12 ms, Anregungswinkel $\alpha = 150^\circ$, Voxelgröße = $0,9 \times 0,9 \times 7,0 \text{ mm}^3$

Anschließend erfolgten Perfusionsmessungen zunächst mit dem niedermolekularen Kontrastmittel. Diese wurden mit einer 3D-Gradientenechosequenz (TWIST, Siemens Healthcare Erlangen, Deutschland) mit hoher zeitlicher Auflösung von ca. 1,5 s durchgeführt. Diese besaß folgende Parameter: TR = 2,69 ms, TE = 0,86 ms, Anregungswinkel $\alpha = 30^\circ$, Voxelgröße $2,9 \times 4,5 \times 2,9 \text{ mm}^3$, $160 \times 48 \times 128$ Rekonstruktionsmatrix, Zeitschritte 100 und 250, Frequenzcodierung in axialer Richtung, parallele Bildgebung mit 3D-GRAPPA mit 32 zentralen k-Raum-Zeilen und Beschleunigungsfaktor 6, Verteilung der peripheren k-Raumzeilen auf mehrere Bilder mittels Schlüsselochtechnik, d.h. die peripheren k-Raumzeilen wurden auf mehrere Zeitschritte symmetrisch auf vorhergehende und nachfolgende Zeitschritte verteilt. 20 % der zentralen k-Raum-Zeilen wurden immer gescannt. Während der ersten 100 Messungen wurden die peripheren 80% der k-Raumzeilen bei jeder 5. Messung abgetastet. Über den zentralen Venenkatheter wurde nach der fünften Messung der dynamischen Sequenz das niedermolekulare Kontrastmittel Dotarem mit dem Injektor appliziert, anschließend wurde isotone NaCl-Lösung zur Spülung der Zuleitungen mit derselben Förderrate injiziert. Die folgenden 250 Messungen wurden mit einer geringeren Zeitauflösung von ca. 6 s ohne Schlüsselochtechnik gemessen.

Nach Messung der oben genannten Pulssequenzen erfolgten die dynamischen Messungen für das hochmolekulare, stark proteinbindende und intravaskulär verbleibende Kontrastmittel Gadofosveset-Trinatrium (Vasovist, Fa. Schering, Deutschland bzw. Ablavar, Lantheus Medical Imaging, USA). Die dynamische Messung erfolgte für 100 Zeitschritte mit identischen Sequenzparametern. Das Kontrastmittel wurde wie bei der ersten Serie nach dem 5. Zeitschritt der Messung appliziert.

Vor jeder dynamischen Messung wurden statische Bilder mit der TWIST-Sequenz ohne Schlüssellochtechnik zur Erstellung von Karten der basalen Relaxivität und Magnetisierbarkeit mit den Anregungswinkeln 5° , 10° , 20° und 30° akquiriert. Die Justage-Einstellungen der ersten statischen Messung wurden für die weiteren statischen und dynamischen Messungen mit der TWIST-Sequenz übernommen, um mit identischen Einstellungen akquirieren zu können. Die Berechnung der Kurven der Änderung der Relaxationsrate erfolgte nach dem Verfahren von Li et al. (Li, et al., 2000).

Nach den dynamischen Messungen erfolgte die Bestimmung des Versorgungsgebietes der A. femoralis durch Erstellung dynamischer Bilder unter lokaler Kontrastmittelgabe wie oben beschrieben. Das Protokoll enthielt eine axiale T1-gewichtete Turbo Spin Echo-Sequenz mit Fettsuppression in Transversalebene mit einer TR = 625 ms, TE = 12 ms, Anregungswinkel $\alpha = 150^\circ$, Voxelgröße: $0,877 \times 0,877 \times 8,4 \text{ mm}^3$, Größe der Rekonstruktionsmatrix: $512 \times 272 \times 40$. Der Ablauf der MRT Messungen ist anschaulich in der folgenden Übersichtsdarstellung des Workflows eines insgesamt ca. acht Stunden dauernden Experimentes dargestellt.

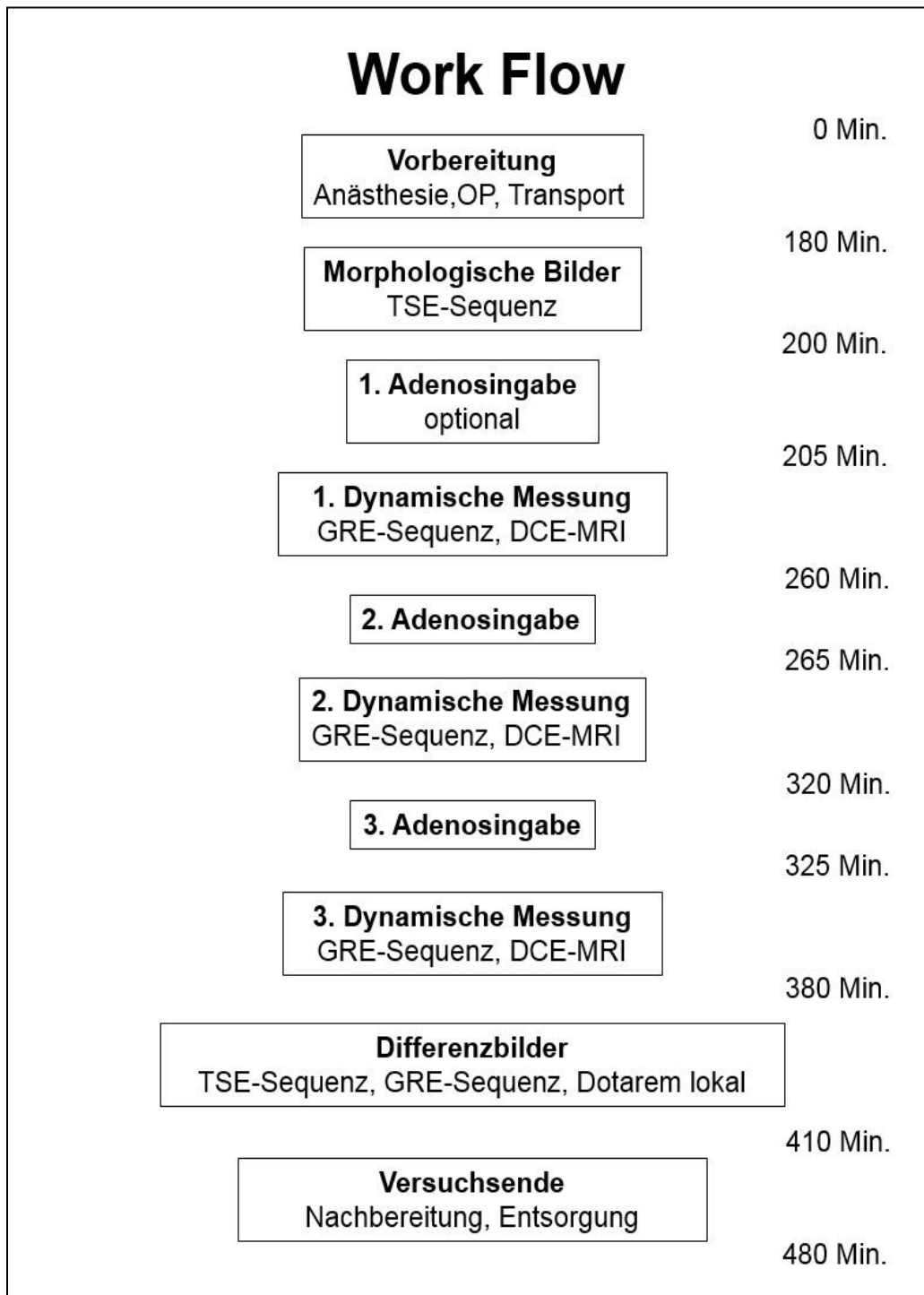


Abbildung 17 Workflow und zeitlicher Rahmen eines Schweineexperimentes

Zur Veranschaulichung der zeitlichen Abfolge und Dauer der dynamischen Messungen unter Adenosingabe dient die Abbildung 18.

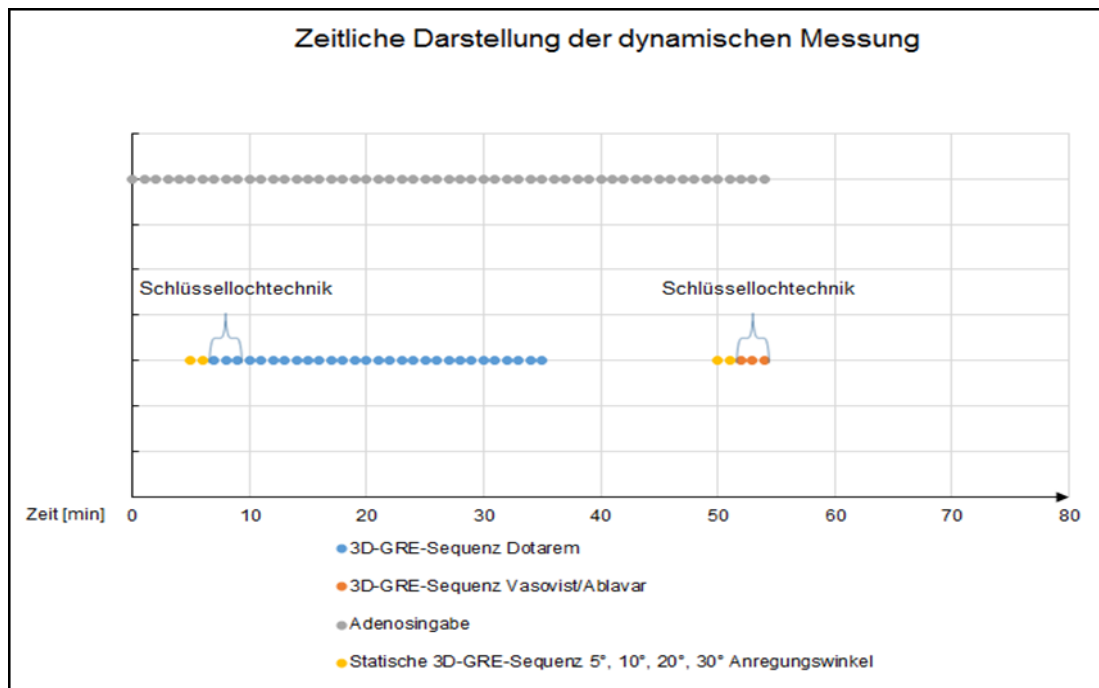


Abbildung 18 Zeitliche Darstellung der dynamischen Messung

Dargestellt ist auf der x-Achse die Zeit in Minuten. Darüber ist die zeitliche Abfolge der dynamischen Messungen mittels der 3D-Gradientenechosequenzen für Dotarem bzw. Vasovist/Ablavar abgebildet. Den Sequenzen vorangestellt sind die statischen Messungen mit den Anregungswinkeln 5°, 10°, 20° und 30°. Zusätzlich markiert mit geschwungenen Klammern sind Anteile der Sequenzen, die mit Schlüssellochtechnik durchgeführt werden. Ganz oben in der Abbildung findet sich die zeitliche Darstellung der Adenosinabgabe. Sie startet beispielhaft in der Abbildung zum Zeitpunkt 0 Minuten. Ca. 5 Minuten nach Start der Applikation wurde ein stabiles Perfusionsniveau erreicht, auf dem die Messungen erfolgen konnten. Die Gesamtdauer der dynamischen Messungen betrug ca. 55 Minuten. Zwischen beiden dynamischen Messungen liegt ein Intervall von ca. 15 Minuten, das der Vorbereitung der nächsten Messung dient.

2.10 Versuchsende

Nach Abschluss der MR-Messungen wurde die Narkose durch zusätzliche Propofol-, Midazolam- und Fentanylgaben vertieft. Die Tötung des Versuchstieres erfolgte dann durch Gabe von 0,3 ml/kgKG T61(Embutramid, Mebezoniumiodid, Tetracainhydrochlorid, Fa. MSD Tiergesundheit, Deutschland). Am Ende des Experimentes erfolgte der Rücktransport in den Großtier-Operationssaal des

Zentralen Tierlabores. Hier wurde das gesamte implantierte Fremdmaterial aus dem Versuchstier entfernt (Trachealtubus, ZVK, Blasenkatheter, venöse und arterielle Zugänge, Ultraschallsonde) und der Tierkadaver anschließend ordnungsgemäß entsorgt.

2.11 Methodik der Datenanalyse

2.11.1 Theoretischer Hintergrund

Zur Validierung der dynamischen MRT-Messungen sollte das Ausmaß des Zusammenhangs zwischen dem mittels Ultraschall bestimmten Blutfluss in einem Schweinehinterlauf und dem mittels DCE-MRI bestimmten Blutvolumenanteil in der Muskulatur eines Schweinehinterlaufes untersucht werden. Das relative Blutvolumen ist hierbei als ein indirektes Maß für die Durchblutung anzusehen. Hierzu wurde als Auswertungsverfahren eine lineare Regressionsanalyse gewählt. Es ist anzunehmen, dass beide Messverfahren, Flussmessung mittels Ultraschall und Blutvolumenbestimmung anhand DCE-MRI, miteinander in einem linearen Zusammenhang stehen. Der Fehler der beiden Methoden ist vornehmlich auf Messunsicherheiten zurückzuführen und wurde als normalverteilt angenommen. Aufgrund der Normalverteilung der Daten wurde das Ausmaß des Zusammenhangs mit Pearson's bivariatem Korrelationskoeffizienten eingeschätzt. Ein Signifikanzwert $p < 0,05$ wurde als statistisch signifikant bewertet.

Die Blutflusswerte stammen dabei aus den Messungen der Ultraschallsonde, welche um die A. femoralis platziert wurde. Die Bestimmung des relativen Blutvolumens erfolgte anhand von jeweils drei Sets dynamischer MRT-Messungen mit dem intravaskulären Kontrastmittel Vasovist/Ablavar (Vasovist, Fa. Schering, Deutschland bzw. Ablavar, Lantheus Medical Imaging, USA) bei sechs Schweineexperimenten. Die Berechnung der Relaxationsratenänderungen aus den mittels MRT gewonnenen Daten erfolgte angelehnt an das von Li et al. untersuchte Verfahren (Li, et al., 2000).

Hierbei wurde zu Beginn jeder MR-Tomographie eine Serie statischer 3D T1-gewichteter Gradient-Echotomographien mit den Anregungswinkeln $\alpha = 5^\circ, 10^\circ, 20^\circ, 30^\circ$ angefertigt, um die intrinsische oder basale longitudinale Relaxationsrate

in 3D (RI_0) und die Magnetisierungskarten (m_0) aus den Signalintensitäten $s(\alpha)$ vor Kontrastmittelgabe zu kalkulieren:

$$s(\alpha) = m_0 \sin \alpha \frac{1 - E1_0}{1 - \cos \alpha \cdot E1_0}$$

α =Anregungswinkel, TR=Repetitionszeit
 $E1_0 = e^{(-TR \cdot RI_0)}$

Als nächstes konnten aus diesen und den dynamischen MR-Tomographien unter Kontrastmittelgabe 4D-Karten (x, y, z, t) der longitudinalen Relaxation $RI(t)$ erstellt werden. Für die Berechnung werden Unterschiede in Signalintensitätsraten vor und nach Kontrastmittelgabe ausgenutzt. Formeltechnisch werden die 4D-Karten der longitudinalen Relaxation $RI(t)$ wie folgt berechnet:

$$RI(t) = -(1/TR) \cdot \ln \frac{1 - (A + B)}{1 - \cos \alpha \cdot (A + B)}$$

(α =Anregungswinkel, TR=Repetitionszeit, $A = \frac{[S_t - S_0]}{M_0 \sin \alpha}$, $B = \frac{(1 - E1_0)}{(1 - \cos \alpha \cdot E1_0)}$,
 S_0 und S_t = Signalintensitäten in den 4-D Karten vor und nach Kontrastmittelgabe)

Hieraus konnten Änderungen der Relaxationsraten für die arterielle Eingangsfunktion (AIF, arterial input function) aus der Aorta abdominalis und Geweberelaxationsratenänderungskurven für bestimmte Areale im Schweinehinterlauf extrahiert werden.

Aus den Relaxationsratenänderungskurven wiederum können zum Zeitpunkt der vollständigen Kontrastmittelverteilung im Gewebe durch Verhältnisbildungen („Gewebe“ zu „AIF“) relative Blutvolumina errechnet werden. Dies beruht auf der Tatsache, dass sich in den Voxeln zur AIF-Bestimmung in der Aorta ausschließlich Blut befindet. Setzt man die erhaltenen Relaxationsratenänderungen ins Verhältnis zu den Relaxationsratenänderungen aus dem betreffenden Gewebe, so erhält man den relativen Blutvolumenanteil. Die Verhältnisbildung „erspart“ dabei die Umrechnung der Relaxationsänderungsraten in Änderungen der Kontrastmittelkonzentrationen, welche die Einführung eines kontrastmittelspezifischen Faktors, der Relaxivität, bedarf. Aus

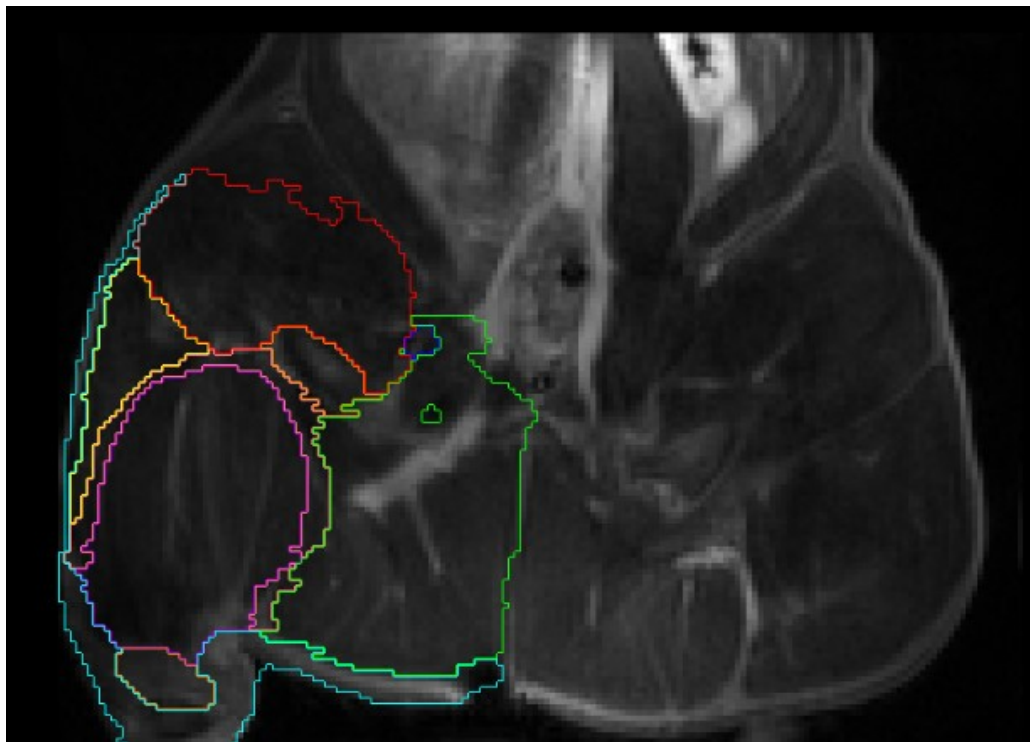
Kontrastmittelkonzentrationsverläufen in Abhängigkeit von der Zeit lassen sich per Integralbildung (area under the curve) ebenfalls Blutvolumina berechnen.

Für die hier durchgeführte Auswertung hat man sich auf die Verhältnisbildung der Relaxationsratenänderungen beschränkt, da diese ausreicht, um Aussagen über den Zusammenhang zwischen relativen Blutvolumina in verschiedenen Kompartimenten des Schweinehinterlaufes und dem mittels Ultraschall gemessenen Blutfluss zu treffen.

2.11.2 Segmentierung, Bestimmung des relativen Blutvolumens und Regressionsanalyse

Auf der Grundlage morphologischer MRT-Bilder und mittels Differenzbildern vor und nach lokaler Kontrastmittelgabe erfolgte anhand spezieller Softwaremodule implementiert in das Computerprogramm Amira (AmiraDev 5.2, Mercury Computer Systems, Berlin, Germany) auf einer Debian Linux 64 Workstation die Bestimmung des arteriellen Versorgungsgebietes am Hinterlauf und dessen Segmentierung. Die Segmente wurden wie folgt bezeichnet: „Medialer Oberschenkel“, „Lateraler Oberschenkel“, „Cranialer Oberschenkel“, „Knochen“, „Haut und Fett“, „Becken- und Oberschenkelmuskulatur“, „Grenzbereich Oberschenkel- und Unterschenkelmuskulatur“, „Unterschenkel“, „Wundenbereich“, 2 „Sondenbereiche“ (Arterienkatheter, Flussonde).

Die folgende Abbildung 19 zeigt beispielhaft die vorgenommenen Segmentierungen.



- Unterschenkel
- Oberschenkelmuskulatur medial
- Oberschenkelmuskulatur lateral
- Oberschenkelmuskulatur cranial
- Knochen
- Haut und Fett
- Becken-Oberschenkelmuskulatur
- Sonde 1
- Grenze Ober- und Unterschenkelmuskulatur
- Sonde 2

Abbildung 19 Segmentierung des Schweinehinterlaufes anhand der Software Amira

Die Segmente separieren sowohl unterschiedliche Muskelgruppen als auch unterschiedliche Gewebearten (Haut mit subcutanem Fettgewebe, Muskel, Knochen) voneinander. Auch wurden die Bereiche der Operationswunde und die der implantierten Fremdkörper (Ultraschallsonde, Arterienkatheter) markiert. Zur Bestimmung des relativen Blutvolumens mussten alle Bereiche des Versorgungsgebietes erfasst werden. Der schwer auszuwertende Übergangsbereich zwischen Ober- und Unterschenkel wurde als gesondertes Segment „Grenze Ober- und Unterschenkel“ betrachtet. Für jedes Segment erfolgte die Mittelung der in diesem enthaltenen Voxelsignale über die Zeit.

Die Extraktion der AIF wiederum erfolgte aus 10 sogenannten „Vollblutvoxeln“, welche streng innerhalb der Aorta abdominalis platziert waren. Da eine räumliche Auflösung gewählt wurde, welche den Durchmesser des Gefäßes überstieg,

konnten so Partialvolumeneffekte auf die AIF vermieden werden. Die Auswahl der Aorta abdominalis anstelle der A. femoralis zur Bestimmung der AIF hatte aufgrund der hohen Blutflüsse in beiden Arterien mit nahezu identischen Konzentrations-Zeit-Verläufen für das Kontrastmittel keinen relevanten Einfluss auf unsere Auswertungen.

Anschließend erfolgte die Bildung eines Verhältnisses aus der gemittelten Relaxationsratenänderung eines Kompartimentes zur korrespondierenden Relaxationsratenänderung in den Vollblutvoxeln der Aorta abdominalis (AIF). Im Detail erfolgte für jede Vasovistmessung standardisiert 60 Sekunden nach Start des Kurvenverlaufes der AIF – dies entspricht dem Zeitraum der annähernd gleichmäßigen Verteilung des Kontrastmittels Vasovist im gesamten Blut – die Mittelung der Relaxationsratenänderungen für das untersuchte Kompartiment und der zugehörigen AIF über eine Dauer von 20 Sekunden. Aus der Verhältnisbildung „Gewebe/AIF“ ließen sich Prozentwerte errechnen die dem Volumenanteil des im jeweiligen Kompartiment befindlichen Blutes entsprechen.

Die folgenden Graphen zeigen die Relaxationsratenänderungen in einem Segment und der zuführenden Aorta abdominalis (AIF).

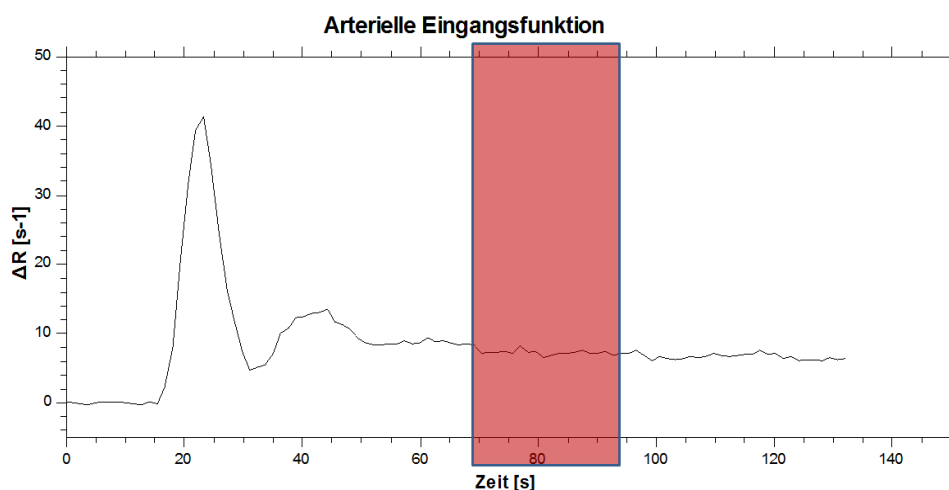


Abbildung 20 Relaxationsratenänderungen nach KM-Applikation in der Aorta abdominalis

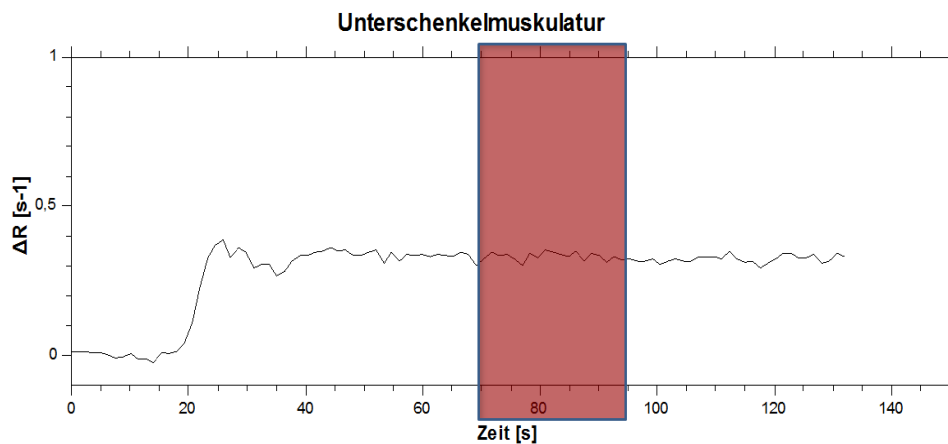


Abbildung 21 Relaxationsratenänderungen nach KM-Applikation im Segment „Unterschenkel“

Die sich daran anschließenden statistischen Berechnungen zur Erstellung einer Regressionsanalyse wurden mit dem Computerprogramm Microsoft Excel (Microsoft Corp., USA) vorgenommen. Die graphische Darstellung erfolgte mit dem Programm QtiPlot (Version 0.9.8.9, freie Software, Lizenz: GNU GENERAL PUBLIC LICENSE Version 2, Copyright (C) 1991 Free Software Foundation, Inc. Boston, USA).

Zur graphischen Darstellung und Auswertung wurden für jedes Segment die relativen Blutvolumina gegen die mit der Ultraschallsonde in der Arteria femoralis gemessenen Blutflusswerte aufgetragen. Da während der dynamischen MR-Tomographien keine kontinuierliche Aufzeichnung der mittels Ultraschallsonde gemessenen Blutflusswerte möglich war - die ausgesandte Hochfrequenzstrahlung wurde von der Ultraschallsonde als Störsignal detektiert - wurden die Werte vor und nach der dynamischen Messung zur Berechnung von Mittelwerten interpoliert. Der Grund für die Unterbrechung des Messsignals der Ultraschallsonde waren elektromagnetische hochfrequente Einstrahlungen durch hohe Anregungswinkel der MR-Sequenzen („Flip“-Winkel).

Um eine lineare Regressionsanalyse durchzuführen, war es schlussendlich notwendig, die relativen Blutvolumina gegen die Blutflusswerte aufzutragen.

2.11.3 Validierung des Zusammenhangs zwischen Perfusion und Blutvolumen

Der Parameter, welcher zur Steigerung der Durchblutung des Schweinehinterlaufes beeinflusst wurde, ist der durch Adenosin i.S. einer Vasodilatation veränderte Gefäßradius r . Zwischen dem Radius r und dem Volumen vb eines Gefäßes besteht unter der Annahme einer zylindrischen Geometrie folgende Beziehung:

$vb = \pi r^2 * h$, wobei r den Gefäßradius und h die Höhe des Zylinders darstellt.

Aus der Formel ist die Beziehung $vb \sim r^2$ ersichtlich. Die hier gewählte Regressionsanalyse zwischen der ultraschallbasierten Perfusionsmessung und der MR-tomographischen Bestimmung eines Blutvolumen lässt sich nun formulieren als $Perfusion \sim r^2$ bzw. $Perfusion \sim vb$. Zur Überprüfung der o.g. Annahme sollte diese gegen zwei weitere getestet werden. Dazu ist anzumerken, dass gemäß des Hagen-Poiseuille-Gesetzes gefordert wird, dass die Perfusion proportional zur vierten Potenz des Gefäßradius sei, also $Perfusion \sim r^4$. Auf die Formel der Zylindergeometrie bezogen bedeutet dies, wenn der Gefäßradius r durch Einsetzen des Volumens ausgedrückt wird: $Perfusion \sim vb^2$.

Als Alternative zu den erstgenannten Ansätzen beschreiben Lüdemann et al. in einer Studie aus 2011 zur Validierung der CT-Angiographie in der Bestimmung einer Nierenarterienstenose am Schwein einen hochsignifikanten linearen Zusammenhang zwischen dem Gefäßradius einer Nierenarterie und der Nierendurchblutung (Lüdemann, et al., 2011). Es lässt sich daraus die Annahme $Perfusion \sim r$, also $Perfusion \sim \sqrt{vb}$ ableiten. Zusammenfassend ergeben sich drei unterschiedliche Ansätze für einen Zusammenhang zwischen Perfusion und Gefäßradius.

1. $Perfusion \sim vb$
2. $Perfusion \sim \sqrt{vb}$
3. $Perfusion \sim vb^2$

Um diese hinsichtlich ihrer Güte zu testen, wurde die Perfusion jeweils gegen den Radius (\sqrt{vb}), das Volumen (vb) und die 4. Potenz des Radius (vb^2) aufgetragen. Anschließend wurden Regressionsanalysen durchgeführt sowie die mittlere quadratische Abweichung bestimmt. Diese stellt als Streuungsmaß ein

Gütekriterium dar, welches die Streuung der Einzelwerte um einen Erwartungswert quantifiziert. Je kleiner der Wert, desto geringer die Streuung der Einzelwerte um den angenommenen „wahren“ Erwartungswert.

3 Ergebnisse

3.1 Allgemeines

Die Ergebnisse dieser Arbeit beruhen auf insgesamt 14 durchgeführten Schweineexperimenten, von denen die ersten acht dazu dienten, die hier beschriebene Methodik des Versuchsablaufes zu etablieren und zu optimieren. Weiterhin dienten die Vorläuferexperimente dazu, MRT-Sequenzen und Akquisitionsparameter für die anatomischen und dynamischen Bildgebungen zu verbessern. Es folgten dann 6 weitere Experimente, auf die das entwickelte Versuchsprotokoll angewendet wurde und die zur Auswertung herangezogen wurden.

3.2 Versuchstiere

Die verwendeten Versuchstiere waren sämtlich weibliche Hausschweine der Deutschen Landrasse. Die sechs zur Datenauswertung herangezogenen Tiere wogen zum Zeitpunkt des Versuchsvorhabens zwischen 56 und 67,5 kg (Mittelwert 60,8 kg). Das Alter der Schweine konnte unter Verwendung von Normogrammen anhand des Gewichtes bestimmt werden und betrug zum Zeitpunkt der Experimente zwischen 4,5 und 5 Monate (Swindle & Smith, 2015).

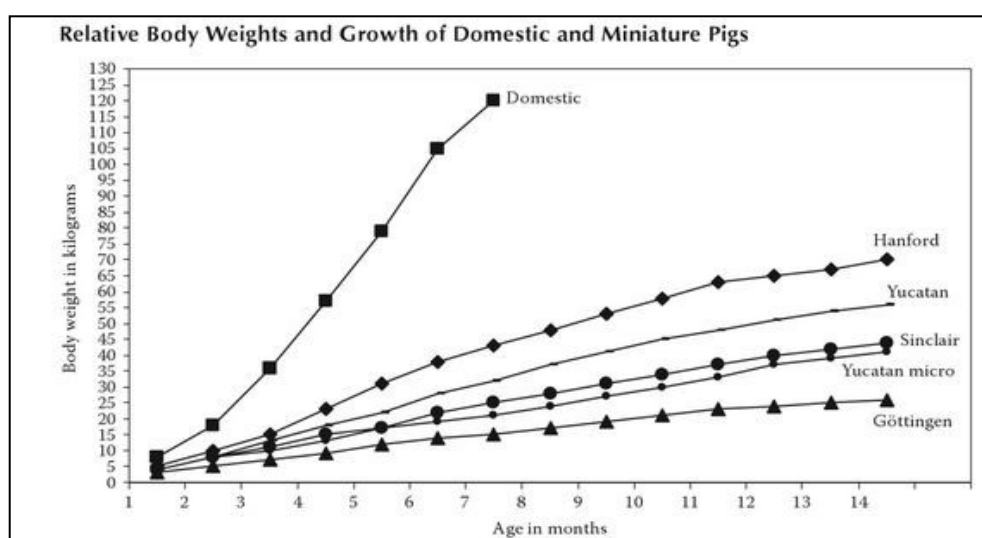


Abbildung 22 Körpergewicht unterschiedlicher Schweinerassen in Abhängigkeit vom Alter (Swindle & Smith, 2015)

3.3 Blutfluss

In den Experimenten wurden mittels intraarterieller Adenosininfusionen in die Femoralarterie eines Schweinehinterlaufes Blutflusssteigerungen generiert, deren Verteilung keine Anhäufung bei bestimmten Flusswerten zeigte. Bei diesen eingestellten Blutflüssen erfolgten dann dynamische MR-Messungen zur Akquisition der MRT-Daten. Der Bereich der eingestellten Blutflusswerte lag zwischen 142 ml/min und 941 ml/min. Die folgende Abbildung zeigt die Verteilung der eingestellten Blutflüsse in allen Experimenten.

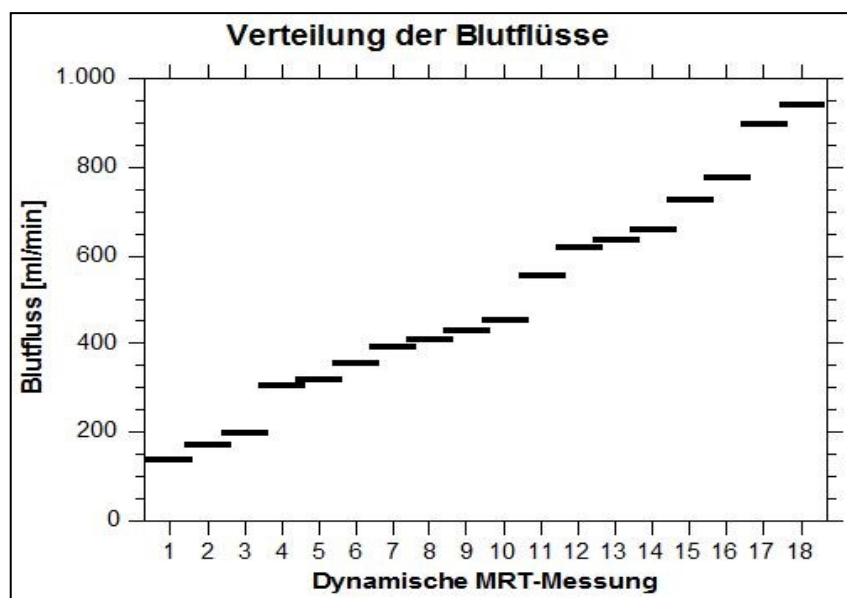


Abbildung 23 Verteilung der Blutflüsse bei 18 dynamischen MRT-Messungen

3.4 Adenosin: Dosis und Wirkungsbeziehung

Die folgenden beiden Graphen zeigen erstens die erreichten Blutflussraten gemessen per Ultraschallsonde in der A. femoralis in Abhängigkeit von der applizierten Adenosindosis. Zweitens werden die Änderungen des Blutflusses in Prozent des Ruheflusses in Abhängigkeit von der verabreichten Adenosindosis dargestellt. Es ist herauszustellen, dass das Maximum der erreichten Flusssteigerung bei dem 4,5 fachen des Ruheblutflusses lag. Eine Adenosindosis um 7 $\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{min}$ konnte interindividuell beispielsweise eine Steigerung des Ruheblutflusses zwischen dem 1,6 und 4,3 fachen bewirken.

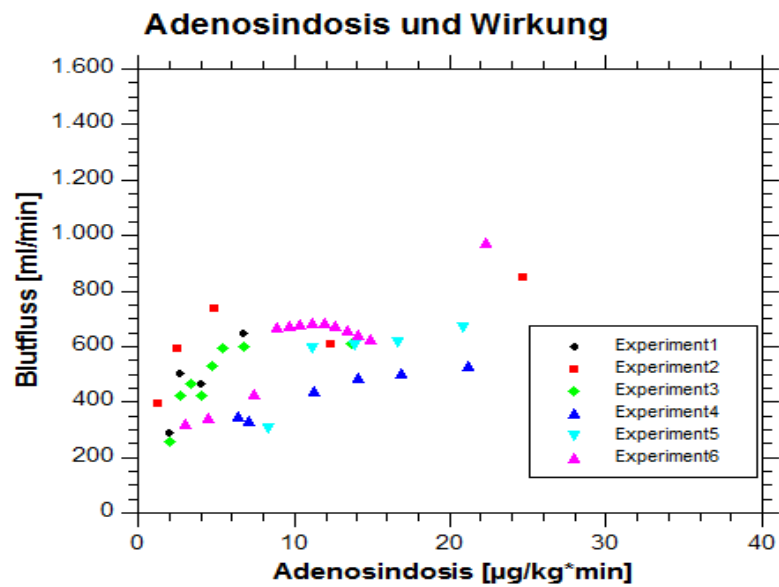


Abbildung 24 Blutflusswerte in Abhängigkeit von der applizierten Adenosindosis in den jeweiligen Experimenten

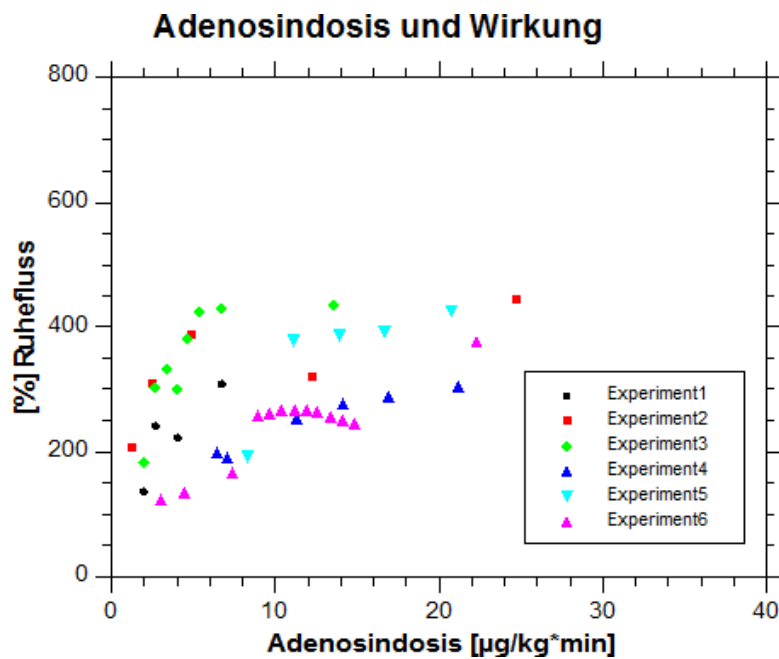


Abbildung 25 Prozentuale Änderungen des Ruheblutflusses in Abhängigkeit von der applizierten Adenosindosis

3.5 Blutvolumenverhältnismethode

Die folgenden Graphen zeigen eine lineare Regressionsanalyse mit Berechnung des Korrelationskoeffizienten r und der Signifikanz p zwischen dem bestimmten relativen Blutvolumen eines Gewebesegmentes im Schweinehinterlauf in Abhängigkeit von den dazugehörigen Blutflusswerten, welche mit der Ultraschall-dopplersonde in der zugehörigen Femoralarterie gemessen wurden. Zusätzlich dargestellt sind die Auswertungen des Segmentes der Haut mit dem zugehörigen subcutanen Fettgewebe sowie die des Knochensegmentes.

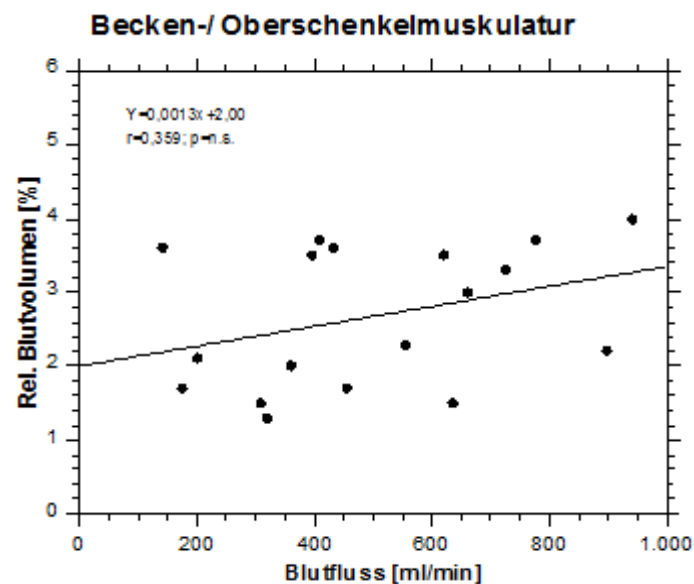


Abbildung 26 Darstellung der relativen Blutvolumina in [%] in Abhängigkeit vom Blutfluss in [ml/min], Regressionsgeradengleichung, Korrelationskoeffizient r , Signifikanz p je Segment

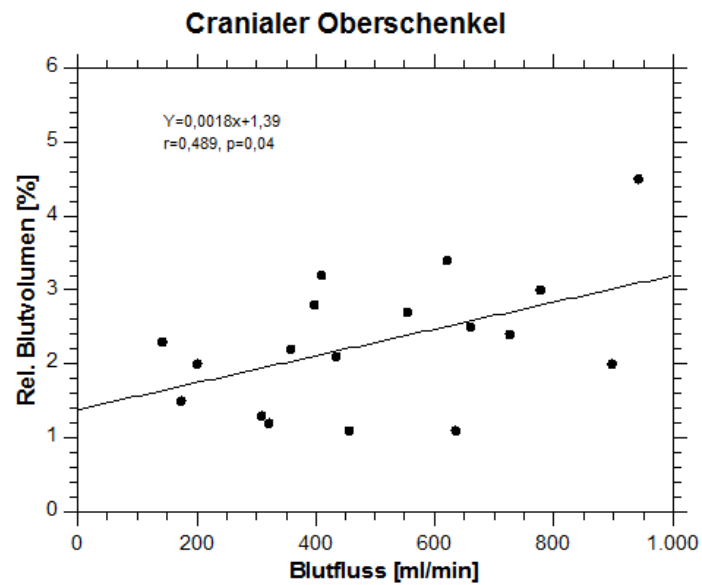


Abbildung 27 Darstellung der relativen Blutvolumina in [%] in Abhängigkeit vom Blutfluss in [ml/min], Regressionsgeradengleichung, Korrelationskoeffizient r , Signifikanz p je Segment

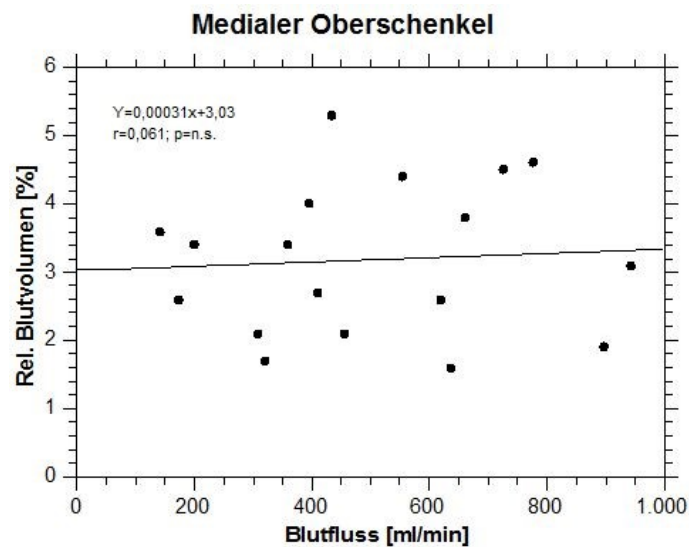


Abbildung 28 Darstellung der relativen Blutvolumina in [%] in Abhängigkeit vom Blutfluss in [ml/min], Regressionsgeradengleichung, Korrelationskoeffizient r , Signifikanz p je Segment

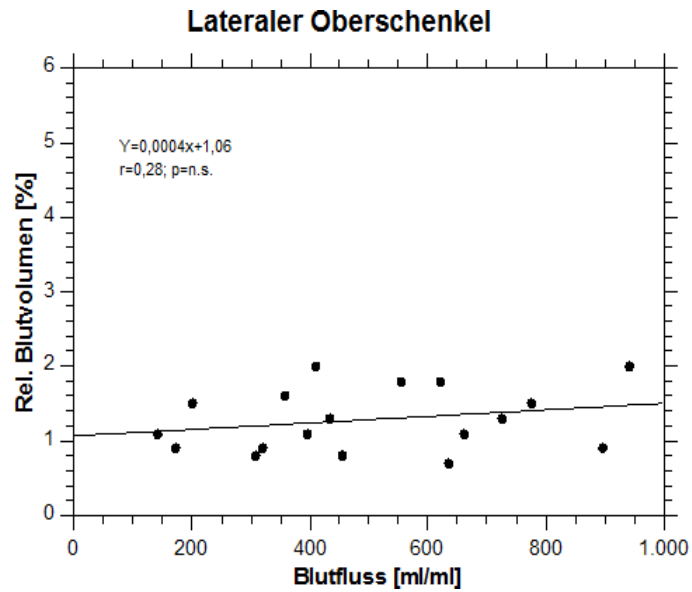


Abbildung 29 Darstellung der relativen Blutvolumina in [%] in Abhängigkeit vom Blutfluss in [ml/min], Regressionsgeradengleichung, Korrelationskoeffizient r , Signifikanz p je Segment

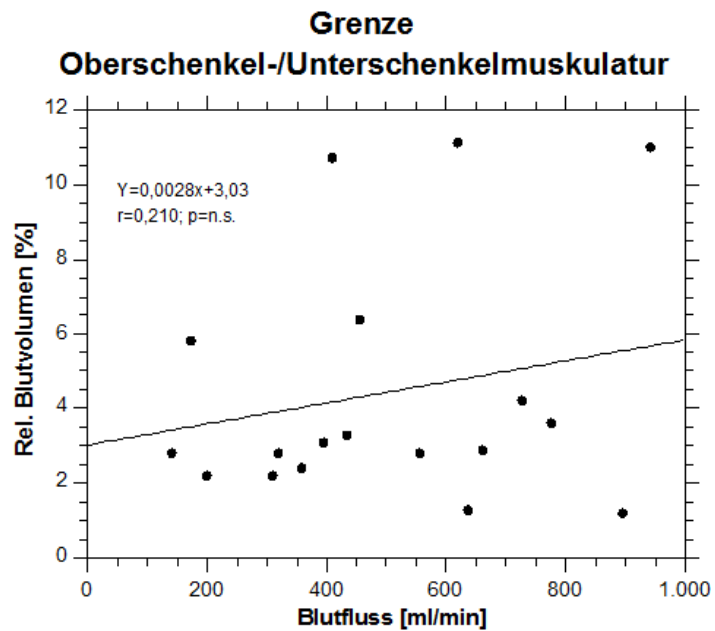


Abbildung 30 Darstellung der relativen Blutvolumina in [%] in Abhängigkeit vom Blutfluss in [ml/min], Regressionsgeradengleichung, Korrelationskoeffizient r , Signifikanz p je Segment

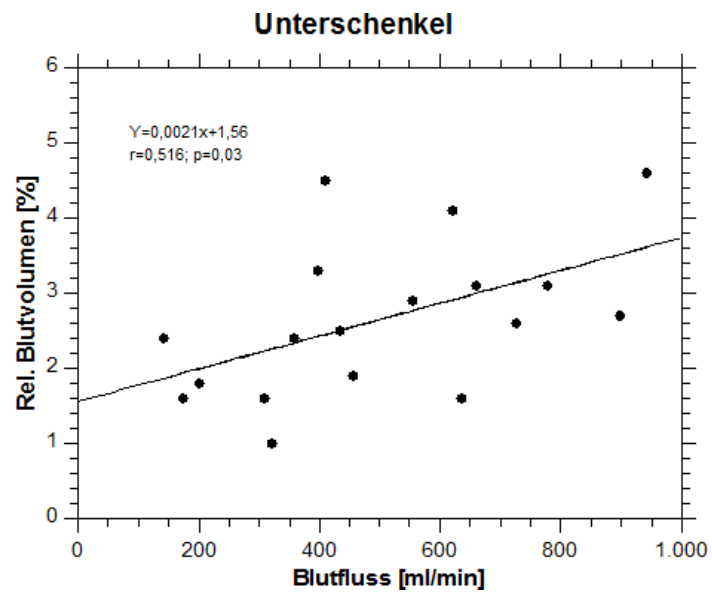


Abbildung 31 Darstellung der relativen Blutvolumina in [%] in Abhängigkeit vom Blutfluss in [ml/min], Regressionsgeradengleichung, Korrelationskoeffizient r , Signifikanz p je Segment

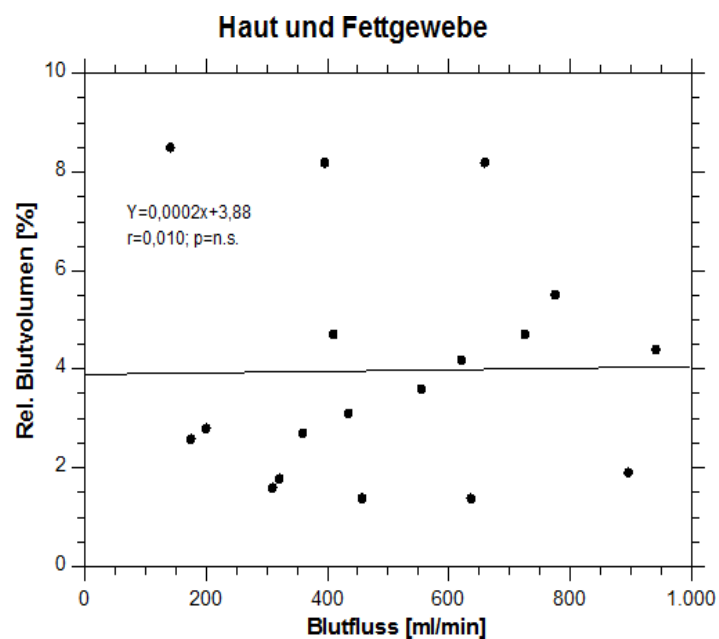


Abbildung 32 Darstellung der relativen Blutvolumina in [%] in Abhängigkeit vom Blutfluss in [ml/min], Regressionsgeradengleichung, Korrelationskoeffizient r , Signifikanz p je Segment

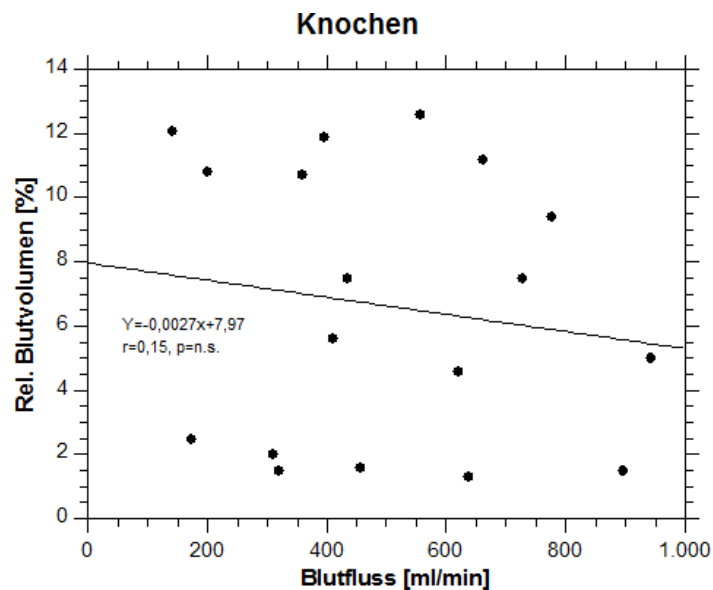


Abbildung 33 Darstellung der relativen Blutvolumina in [%] in Abhängigkeit vom Blutfluss in [ml/min], Regressionsgeradengleichung, Korrelationskoeffizient r , Signifikanz p je Segment

Als Ergebnis ist festzuhalten, dass im Bereich aller Muskelkompartimente bei zunehmendem Blutfluss eine Zunahme des relativen Blutvolumens i.S. eines positiven linearen Zusammenhanges auftritt. Signifikant war dieser Zusammenhang in den Kompartimenten „Unterschenkel“ und „Cranialer Oberschenkel“.

Im Kompartiment „Haut und Fettgewebe“ blieb das relative Blutvolumen bezogen auf die Regressionsgerade annähernd konstant. Im Bereich des Knochens kam es zu einer tendenziellen Abnahme des relativen Blutvolumens.

Der Wertebereich der gemessenen relativen Blutvolumina in den Muskelkompartimenten beträgt zwischen 1,1 und 3,8 Prozent bezogen auf die Regressionsgeraden. Ausgenommen sei das Kompartiment „Oberschenkel-/Unterschenkelmuskulatur“. Hier zeigt sich ein höheres relatives Blutvolumen von bis zu 5,8%. Es sei jedoch noch einmal auf die Besonderheit des Kompartiments hingewiesen, welches ausgewertete Voxel enthält, deren Signale aus Knochen- und Bindegewebe stammen und in die Berechnung des relativen Blutvolumens mit eingeflossen sind. Das Kompartiment wurde geschaffen, um das Gesamtversorgungsgebiet der A. femoralis zu erfassen und eine komplette Volumenabdeckung des untersuchten Versorgungsareals zu ermöglichen.

3.6 Überprüfung des linearen Zusammenhanges

Aus den theoretischen Vorüberlegungen ergeben sich die drei folgenden Testansätze hinsichtlich des Zusammenhanges zwischen der Perfusion und dem Gefäßradius bzw. des Gefäßvolumens:

1. Perfusion $\sim v b$
2. Perfusion $\sim \sqrt{v} b$
3. Perfusion $\sim v b^2$

Die unten aufgeführte Tabelle 3 zeigt zusammenfassend die aus den für jedes Kompartiment durchgeführten Regressionsanalysen gewonnenen bivariaten Korrelationskoeffizienten r nach Pearson und deren Signifikanzwerte p . Ein p -Wert von $< 0,05$ wurde als signifikant angesehen. Zusätzlich wurden für jeden Ansatz die mittleren quadratischen Abweichungen (MQA) als Streuungsmaß aufgeführt.

Medialer Oberschenkel	vb	vb²	√vb
Korrelationskoeffizient Signifikanz MQA	0,06 n.s. 54128	0,09 n.s. 53921	0,05 n.s. 54222
Cranialer Oberschenkel	vb	vb²	√vb
Korrelationskoeffizient Signifikanz MQA	0,489 0,04 41367	0,521 0,03 39571	0,461 0,05 42766
Lateraler Oberschenkel	vb	vb²	√vb
Korrelationskoeffizient Signifikanz MQA	0,28 n.s. 50056	0,30 n.s. 49449	0,27 n.s. 50396
Unterschenkel	vb	vb²	√vb
Korrelationskoeffizient Signifikanz MQA	0,516 0,03 39848	0,486 0,04 41512	0,523 0,03 39488
Becken-/Oberschenkelmuskulatur	vb	vb²	√vb
Korrelationskoeffizient Signifikanz MQA	0,36 n.s. 47347	0,35 n.s. 47521	0,36 n.s. 47253
Grenze Ober- /Unterschenkelmuskulatur	vb	vb²	√vb
Korrelationskoeffizient Signifikanz MQA	0,21 n.s. 51946	0,27 n.s. 50504	0,16 n.s. 52993

Tabelle 3 Korrelationskoeffizienten, Signifikanz und mittlere quadratische Abweichung (MQA) je Segment, ermittelt aus der Regressionsanalyse zwischen Perfusion und vb, vb² bzw. √vb. (vb=relatives Blutvolumen)

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass nur in den Kompartimenten „Cranialer Oberschenkel“ und „Unterschenkel“ eine signifikante Korrelation für alle drei Ansätze erreicht wird. Die Korrelationskoeffizienten schwanken nur gering um den Wert 0,5 in den Tests für vb, vb² und √vb. Jedoch ist die Tendenz der

Koeffizienten für $v b^2$ und $\sqrt{v} b$ in beiden Muskelgruppen gegensätzlich. Der Korrelationskoeffizient für $v b$ dahingegen liegt jeweils zwischen denen für $\sqrt{v} b$ und $v b^2$. Bei der Betrachtung der MQA zeigt sich dasselbe Ergebnis. Eine eindeutige Festlegung, welcher Zusammenhang zwischen Perfusion und Gefäßradius überlegen ist, gibt es demnach nicht. Es lässt sich jedoch argumentieren, dass der Zusammenhang $\text{Perfusion} \sim v b$, das heißt $\text{Perfusion} \sim r^2$, einen guten Kompromiss zwischen den betrachteten Ansätzen darstellt.

4 Diskussion

4.1 Vorbemerkung

Ziel der hier vorliegenden Arbeit war die tierexperimentelle Validierung der Perfusionsbildgebung mittels DCE-MRI in der quergestreiften Muskulatur des Schweines durch einen Vergleich mit einer Referenzmethode (dopplersonographische Blutflussmessung mittels einer speziellen Ultraschallflusssonde).

Die DCE-MRI ermöglicht die nichtinvasive Messung und bildliche Darstellung funktioneller Gewebeparameter, die in der klinischen Anwendung dazu dienen können, eine Bestrahlungsplanung solider Tumore oder die Verlaufskontrolle einer Radiotherapie durchzuführen. In Konsequenz wäre so eine an Gewebeeigenschaften angepasste, individualisierte und in ihren Nebenwirkungen reduzierte Bestrahlung möglich. In der vorliegenden Arbeit wurde nach Etablierung eines experimentellen Vorgehens zur Validierung der DCE-MRI der Parameter „relatives Blutvolumen“ der Gewebesegmente des Schweinehinterlaufes herangezogen. Das relative Blutvolumen wurde auf der Grundlage der dynamischen Messungen des intravasal verbleibenden Kontrastmittels Vasovist/Ablavar bestimmt. Auswertungen der Messungen mit dem extravasierenden Kontrastmittel Dotarem sind hingegen nicht Gegenstand dieser Arbeit und erfahren keine Diskussion, da dies den gesetzten Rahmen überschreiten würde. Auf der Grundlage des hier vorgestellten experimentellen Vorgehens wäre es denkbar, in einem nächsten Schritt die einleitend vorgestellten Kompartimentmodelle, welche die Generierung weiterer funktioneller Gewebeparameter erlauben, hinsichtlich ihrer Genauigkeit und Anwendbarkeit für die Routine zu überprüfen. Dazu könnten die dynamischen Messungen des extravasierenden Dotarem herangezogen werden. In einer kürzlich zur Publikation eingereichten Arbeit von Hindel et al. in „Magnetic Resonance in Medicine“ findet sich die Präsentation der dynamischen Daten der Dotarem-Messung in Form einer Validierung neuer Kompartimentmodelle zur Perfusionsbildgebung. Auf die Arbeit und ihre die Diskussion der Datenauswertung darf an dieser Stelle zur weiteren Information verwiesen werden (Hindel, et al., 2017).

4.2 Kritische Würdigung des experimentellen Vorgehens

In der hier vorliegenden Arbeit wurde eine neue tierexperimentelle Versuchsanordnung zur Perfusionsmessung im Bereich der quergestreiften Schweineskelettmuskulatur entwickelt. Bis zur Etablierung derselben mussten einige Korrekturen in Ablauf und experimenteller Praxis vorgenommen werden. Hingewiesen wurde bereits darauf, dass der Zugang zur A. axillaris am Vorderlauf des Schweines für das Versuchsvorhaben ungeeignet war, sodass der Schweinehinterlauf als Untersuchungsgebiet ausgewählt wurde. Der Durchmesser der Axillararterie war zu gering, um die geplanten Messungen durchzuführen. Laut Herstellerangaben muss das zu untersuchende Blutgefäß das Schallfenster der Flusssonde mindestens zu 70% ausfüllen, um kontinuierlich und valide Flussdaten messen zu können. Dies war bei Verwendung der 6 mm-Flusssonde und Durchmessern der A. femoralis zwischen 4,5 und 6 mm gegeben. Außerdem war es bei der Präparation der A. axillaris unvermeidbar nervale Strukturen des in anatomischer Nähe befindlichen Plexus brachialis zu durchtrennen, was einen unerwünschten Einfluß auf die nervale Durchblutungsregulation in deren Stromgebiet gehabt hätte.

Das neu gewählte Untersuchungsgebiet war für das Vorhaben besser geeignet, jedoch erschwerte die tiefe Lage der A. femoralis zwischen der kräftigen Muskulatur des Hinterlaufes das präparatorische Vorgehen und machte dieses zeitaufwendig. Anspruchsvoll war es in einer tiefen und relativ engen Operationswunde bereits vor Arterienpunktion den intravulnären Verlauf des Katheterschlauches und des Sondenkabels hinsichtlich einer späteren Bildartefaktminimierung zu berücksichtigen und zu planen.

Um eine unnötige Traumatisierung der A. femoralis und damit eine potentielle Beeinträchtigung der Messungen zu vermeiden, war es das Ziel, möglichst mit einem einzigen Punktionsversuch zur Anlage des intraarteriellen Katheters auszukommen. Einmalig kam es bei einem solchen Punktionsversuch zu einer langstreckigen Einblutung in die Arterienwand und anhaltenden Blutung aus der Punktionsstelle, die das Unterbinden der A. femoralis und den Wechsel des Operationsgebietes zur Gegenseite notwendig machte. Die Implantation des Kathetermaterials und der Ultraschallsonde dort verlief dann problemlos. Der Versuchsablauf verzögerte sich jedoch um circa 1,5 Stunden.

Weitere Optimierungen des operativen Vorgehens betrafen das zusätzliche Sichern des Verlaufes des Sondenkabels und der Katheterschläuche durch Setzen mehrerer Einzelknopfnähte, um einer späteren Abknickung oder Dislokation während des Transportes vorzubeugen. Eine nachträgliche Korrektur im MRT-Untersuchungsraum war nur mühsam zu bewerkstelligen.

Rückblickend konnte jedoch nach einer kurzen Lernkurve ein experimentelles Vorgehen etabliert werden, welches standardisiert durchführbar war und robust Daten von hoher Qualität generierte. Jedes Experiment erforderte ein hohes Maß an Aufwand hinsichtlich Planung und Vorbereitung, Genauigkeit bei der Präparation und Konzentration bei der Durchführung der MRT-Messungen.

4.3 Zusammenhang zwischen Blutfluss und Blutvolumen

Zur Validierung der Perfusion in der Muskulatur des Schweinehinterlaufes wurde der mittels DCE-MRI bestimmte Parameter des relativen Blutvolumens herangezogen. Im gemessenen Parameter Volumen ist durch Formelbeziehungen aus der Zylindergeometrie der Gefäßradius enthalten ($\text{Perfusion} \sim r^2$, vgl. Methodenteil). Die Überprüfung des Zusammenhanges zwischen Perfusion und relativem Blutvolumen ergab signifikante Korrelationen in den Muskelkompartimenten „Cranialer Oberschenkel“ und „Unterschenkel“. Dies traf ebenfalls zu für die Testungen \sqrt{vb} und vb^2 zu mit nahezu identischen Korrelationskoeffizienten um 0,5. Die gegenläufigen Tendenzen für die Koeffizienten in den Ansätzen \sqrt{vb} und vb^2 deuteten darauf hin, dass der getestete Ansatz $\text{Perfusion} \sim vb$, welcher stets einen Korrelationskoeffizienten ergab, der zwischen denen der anderen Ansätze lag, einen guten Kompromiss zur Beschreibung des Zusammenhanges darstellt. Die fehlende Signifikanz in den übrigen Muskelkompartimenten - das Kompartiment „Grenze Oberschenkel-Unterschenkelmuskulatur“ sei aufgrund seiner Besonderheiten ausgenommen - führten wir auf die Eigenschaft des Adenosin zurück, regional unterschiedliche Perfusionssteigerungen zu generieren. Auf dieses Phänomen soll noch eingegangen werden.

Zur Untersuchung des korrekten Zusammenhanges zwischen Perfusion und Gefäßradius ($\text{Perfusion} \sim r^x$) existieren zahlreiche Studien und wissenschaftliche

Abhandlungen. Gemäß des Hagen Poiseuille-Gesetzes beträgt dieser Zusammenhang $\text{Perfusion} \sim r^4$. Auf die Limitationen des Gesetzes wurde an anderer Stelle bereits eingegangen. Cecil Murray formulierte 1926 ferner Gesetzmäßigkeiten, welche dem Prinzip des minimalen Energieverlustes folgen und als optimale Beziehung zwischen Blutfluss und Arterienradius einen Zusammenhang mit r^3 nennen (Sherman, 1981). Nakamura et al. behandeln das Thema des optimalen Radiusexponenten in einer Studie aus 2014. Sie teilen das menschliche arterielle Gefäßsystem in einen „elastischen“ und „starren“ Anteil bezogen auf die Gefäßarchitektur, und berechnen auf der Basis bestimmter Annahmen aus dem Hagen-Poiseuille-Gesetz, dem Bernoulli-Gesetz und dem Energieerhaltungssatz, Exponenten des Gefäßradius für beide Gefäßarten. Für elastische Arterien, d.h. proximale Arterien des Körperkreislaufes mit Gefäßradien $> 1\text{mm}$ und Arterien des Pulmonalkreislaufes mit Radien $> 0,004\text{mm}$ errechnen sie einen Wert von 2,3. Für rigidere Arterien mit höherem Muskelanteil und periphere Arterien des Körperkreislaufes werden Werte von 2,7 bzw. 3,0 in Abhängigkeit des Gefäßradius angegeben. Ihre Berechnungen belegen sie mit Daten zahlreicher Studien, die an unterschiedlichen Arterien von Säugetieren vorgenommen wurden und die Exponenten im Mittel zwischen 2,0 und 3,0 angeben. Einschränkend wird betont, dass der Wertebereich der Exponenten in der Literatur zwischen 1,0 und 4,0 variiert (Nakamura & Awa, 2014).

Lüdemann et al. beschreiben in ihrer Studie aus 2008 eine hochsignifikante lineare Abhängigkeit der Nierendurchblutung vom Gefäßradius der zuführenden Nierenarterie ($\text{Perfusion} \sim r$) (Lüdemann, et al., 2011). In der Studie wurden an Schweinen CT-Angiografien einer durch einen aufblasbaren Cuff stenosierten Nierenarterie durchgeführt und gleichzeitig der Blutfluss mittels einer Ultraschallsonde distal der Stenose bestimmt. Die Linearität des Zusammenhanges galt für Gefäßradien der zuführenden Nierenarterie größer als 1mm und wurde auf autoregulatorische Prozesse zur Aufrechterhaltung einer konstanten Nierendurchblutung zurückgeführt. Bei Gefäßradien unter 1mm war die Linearität des Zusammenhanges aufgrund der Dekompensation der Autoregulation aufgehoben. Als Fazit ist festzuhalten, dass das Ausmaß des Zusammenhanges zwischen Perfusion und Gefäßradius von zahlreichen Faktoren, wie z.B. dem Aufbau und der Größe des betrachteten Gefäßbaumes

und spezifischen Gewebeeigenschaften wie z.B. Potential zur Autoregulation, abhängt. Eine generelle Wertangabe findet sich in der Literatur nicht. Der in dieser Arbeit gewählte Ansatz zur Beschreibung des Zusammenhanges mit Perfusion $\sim r^2$ stellt vor dem Hintergrund eines Wertebereichs von r^1 bis r^4 einen guten Mittelweg dar.

4.4 Adenosin: Dosis-Wirkung-Beziehung

Vor Auswahl des Medikamentes zur Perfusionssteigerung in der Schweinemuskulatur wurden neben dem Adenosin bei der Experimentplanung weitere Vasodilatoren, wie z.B. Nitroprussid-Natrium oder Alprostadil (Handelsname Prostavasin) in Betracht gezogen. Nitroprussid-Natrium, welches zur NO-vermittelten Vasodilatation führt, wurde für das Versuchsvorhaben aufgrund des im Vergleich zu Adenosin in Studien genannten geringeren perfusionssteigernden Effekts nicht ausgewählt. Studien zur Untersuchung der Perfusion am Skelettmuskel beim Menschen zeigten für Nitroprussid-Natrium lediglich eine Verdopplung der Ruhedurchblutung, für Adenosin fanden sich Werte bis zum 9-fachen der Ruhedurchblutung (Pitkänen, et al., 1999) (Radegran et al, 2001). Zudem wird Nitroprussid-Natrium aufgrund seiner starken Blutdruck senkenden Wirkung meist auf Intensivstationen unter strenger Überwachung eingesetzt. Außerdem birgt es bei Anwendung aufgrund seines strukturellen Aufbaus mit einem Ferricyanidkomplex die Gefahr einer Cyanidakkumulation und Intoxikation bei verminderter Ausscheidung (Marino, P.L, Sutin, K.M, 2008). Alprostadil, ein Prostaglandin E1, führt bei intraarterieller Applikation ebenfalls zur Vasodilatation. Im Unterschied zu Adenosin besitzt es eine längere Eliminationshalbwertszeit von ca. 8-10 Minuten, welches eine schlechtere Steuerbarkeit im Vergleich zu Adenosin zur Folge hat. Gerade diese Eigenschaft war für das Versuchsvorhaben wichtig, um rasch verschiedene Perfusionsstufen zu erreichen. Weiterhin waren potentielle Nebenwirkungen dafür verantwortlich, dass Alprostadil nicht verwendet wurde. Zu nennen sind hier die Gefahr eines Lungenödems bei Hyperhydratation, z.B. im Rahmen einer lang dauernden Narkose, die Möglichkeit der ausgeprägten arteriellen Hypotension im Zusammenwirken mit anderen Blutdruck senkenden Medikamenten, wie z.B. den zur Anästhesie verwendeten Narkotika (UCB Pharma GmbH, 2016). Im Vergleich

mit Alprostadil wurde die Möglichkeit kardialer und den Kreislauf betreffender Nebenwirkungen seitens des Adenosins aufgrund seiner kurzen Halbwertszeit im Sekundenbereich bei peripherer arterieller Applikation, dem dann nachfolgenden venösem Abfluss und Passage des Lungenkreislaufes als geringer eingeschätzt.

In der hier vorliegenden Arbeit zeigten sich bei der Verabreichung des Vasodilatators Adenosin interindividuelle Schwankungen in der Dosis-Wirkung Beziehung. Adenosin war aufgrund seiner Kinetik zwar gut geeignet eine rasch einsetzende Durchblutungssteigerung hervorzurufen und diese mittels kontinuierlicher intraarterieller Infusion konstant aufrechtzuerhalten, zeigte jedoch bei ein und derselben Dosis interindividuelle Flussteigerungen zwischen dem 1,6 bis 4,3 fachen des Ruheblutflusses. Dieser Effekt findet sich auch in der gesichteten Literatur wieder. Heinonen et al. berichten in einer auf PET-Messungen beruhenden Studie von Steigerungen des Ruheblutflusses in der menschlichen Oberschenkelmuskulatur zwischen dem 5 und 30 fachen bei intraarterieller Adenosininfusion in die Femoralarterie (Heinonen, et al., 2010). In der Diskussion ihrer Ergebnisse gehen Heinonen et al. auf mögliche Gründe für die interindividuell unterschiedlichen Flussteigerungen durch Adenosin ein. Ein Grund könnten verschieden hohe, den Adenosineffekt antagonisierende Level an bereits vorherrschender Sympathikusaktivität im Probanden sein. Adenosin sei zwar ein potenter Vasodilatator, jedoch ein relativ schwacher Antagonist der Sympathikusaktivierung, sodass ein hohes Niveau an vorhandener Sympathikusaktivierung den Effekt einer Adenosin-Rezeptoraktivierung abmildern und so zu unterschiedlichen Blutflusssteigerungen führen könne. Eine 30 fache Flussteigerung ist vom Ausmaß her jedoch anzuzweifeln, da dies enorme Vasodilatationen mit Vergrößerungen des Arterienradius zwischen dem 5,5 fachen und 2,3 fachen je nach Zusammenhang ($\text{Perfusion} \sim r^2$ bzw. r^4) erfordern würde.

In einer Studie zur Untersuchung der Effekte von Adenosininfusionen auf die Muskeldurchblutung am menschlichen Unterarm von Martin et al. aus 2006 wird eine bimodale Verteilung des Effektes auf eine intraarterielle Adenosininfusion herausgestellt. Es wird betont, dass es sog. Responder und Non-Responder auf Adenosingaben gibt, die sich in einem Verhältnis von ungefähr 1:1 aufteilen. Responder sind demnach Probanden, die reproduzierbar, dosisabhängig signifikant auf intraarterielle Adenosininfusionen reagieren, während bei Non-

Respondern nur eine geringe vasodilatatorische Wirkung auftritt. Als Ursachen werden im Wesentlichen Unterschiede in Funktion und Verteilung von Adenosinrezeptoren sowie unterschiedliche Rezeptorsensitivitäten für exogen oder endogen zugeführtes Adenosin angenommen (Martin, et al., 2006). Dies stellt eine mögliche Erklärung für das niedrigere Ausmaß der Durchblutungssteigerung und für die unterschiedlich benötigten Adenosindosen, welche erforderlich waren, um ein und dasselbe Blutflussniveau herzustellen, in dieser Arbeit dar.

Widersprüchliche Ergebnisse aus tierexperimentellen Studien, bezüglich der Effekte einer Adenosinrezeptorblockade auf durch Muskelkontraktion bedingte Durchblutungssteigerung, deuten zusätzlich darauf hin, dass Unterschiede im Ansprechverhalten auf Adenosingaben zwischen unterschiedlichen Spezies existieren könnten (Koch, et al., 1990) (Poucher, et al., 1990).

Insgesamt wird in der gesichteten Literatur deutlich, dass verschiedene Erklärungsansätze für die interindividuellen Schwankungen in der durch Adenosin hervorgerufenen Durchblutungssteigerung existieren, die Ursachen jedoch nicht vollständig geklärt sind.

4.5 Regionale Verteilung der Blutvolumenzunahme

In der Arbeit von Heinonen et al. (Heinonen, et al., 2010) wird auch auf das Phänomen regional unterschiedlicher Durchblutungssteigerungen, sog. Heterogenitäten der Perfusionssteigerung durch Adenosin eingegangen. So finden sich als Reaktionsmuster auf Adenosingaben in tiefer gelegenen Muskelgruppen höhere Blutflusssteigerungen als in oberflächlich gelegenen Muskelabschnitten. Diese Beobachtung findet sich bezogen auf die hier vorliegende Arbeit beispielsweise im Vergleich der Kompartimente „Lateraler Oberschenkel“ und „Cranialer Oberschenkel“ wieder. Während das relative Blutvolumen in erstgenanntem peripher gelegenen Kompartiment von 1,1 % auf ca. 1,5 % ansteigt, nimmt der prozentuale Anteil des Blutvolumens im cranialen Kompartiment, welches einen hohen Anteil an tiefer gelegenen Muskeln enthält, von 1,5% auf 3,7 % zu. Betrachtet wurde hierbei die Regressionsgerade der beiden Graphen. Zurückgeführt wird dieses Phänomen in der zitierten Studie auf

eine hohe Dichte von Adenosinrezeptoren in Geweben mit hoher Kapillardichte, was auf tiefer liegende Muskelbereiche zutrifft (Heinonen, et al., 2010).

4.6 Effekt im Knochensegment

Die Bestimmungen der relativen Blutvolumina im Bereich des Knochensegmentes zeigen bei Zunahme des Blutflusses in der Femoralarterie durch kontinuierliche Adenosinabgaben tendenziell eine lineare Abnahme des relativen Blutvolumens, welche jedoch nicht signifikant ist. Dies steht im Einklang mit Erkenntnissen von Cochrane und McCarthy, die den Effekt einer arteriellen Vasodilatator- und Vasokonstriktor-Infusion auf die Knochendurchblutung bei Ratten vergleichend untersuchten. Hier konnte im Ergebnis gezeigt werden, dass der Vasodilatator ATP bei intraarterieller Verabreichung eine Blutflussabnahme im Knochen bewirkte (Cochrane & McCarthy, 1991). Dies wurde jedoch nicht auf eine direkte Wirkung am Knochengewebe zurückgeführt, sondern auf ein stärkeres Absinken des systemischen Blutdruckes im Vergleich zum Gefäßwiderstand im Knochen. Vereinfachend gesagt entsteht durch Vasodilatatorgabe ein sog. Steal-Effekt im Gefäßbett des Knochens. Hierbei kommt es zu einer Umverteilung des Blutes in der Weise, dass einem Gefäßversorgungsgebiet zugunsten eines anderen Gebietes Blut entzogen wird. Konkret bedeutet dies, dass eine Zunahme der Blutvolumina in den Muskelkompartimenten zu einer kompensatorischen Abnahme des Blutflusses bzw. des Blutvolumens durch Reduzierung des Blutdrucks im Knochen führt. Dies unterstützt eine Studie von Brinker et al., welche im Ergebnis zeigt, dass die Knochendurchblutung relativ unempfindlich gegenüber einer Vasodilatatorgabe ist, jedoch aktiv auf Vasokonstriktoren reagiert (Brinker, et al., 1990).

4.7 Effekt im Haut- und Fettgewebe

Bei Betrachtung der Regressionsgerade der segmentbezogenen Analyse des Haut- und Fettgewebes zeigt sich eine minimale positive Steigung mit einer Korrelation, die ein Signifikanzniveau $p < 0,05$ nicht erreicht. Wie in der Abbildung 32 ersichtlich, lassen die gezeigten Daten keine belastbaren Schlussfolgerungen zu.

Die hohe Schwankungsbreite in den gemessenen relativen Blutvolumina im Vergleich zu den Muskelkompartimenten kann durch sog. Suszeptibilitätsartefakte an Gewebegrenzflächen oder der Grenze Luft/Gewebe bedingt sein. Eventuell ist auch eine unterschiedliche Hauterwärmung bei den Experimenten mit entsprechender Thermoregulation im betreffenden Haut- und Fettgewebe mit verantwortlich für die Schwankungen in den relativen Blutvolumina. Partialvolumeneffekte stellen ebenfalls eine mögliche Fehlerquelle dar. In der Literatur finden sich jedoch Hinweise, dass Adenosin unter Ruhebedingungen keine signifikanten Änderungen in der Hautperfusion hervorruft, was die dargestellte Regressionsgerade andeutet. In einer Arbeit zur Untersuchung einer mittels Adenosin hergestellten funktionellen Hyperämie am menschlichen Oberschenkel von Radegran und Calbet aus dem Jahr 2001 (Radegran & Calbet, 2001) findet sich bei intraarterieller kontinuierlicher Adenosininfusion in die menschliche Femoralarterie in der Haut nur eine geringe Zunahme der Perfusion. Ein signifikanter Unterschied zum Ruhefluss ($p < 0,05$) wird nur bei der Applikation der zwei höchsten Adenosindosen erreicht. Die Messungen wurden mittels einer Laser-Doppler-Sonde im Hautbereich über dem Quadrizepsmuskel ausgeführt.

4.8 Dimension der bestimmten relativen Blutvolumina

Die in der vorliegenden Arbeit bestimmten relativen Blutvolumina in den überwiegend Muskulatur enthaltenden Segmenten, korrespondieren hinsichtlich ihres Wertebereiches mit denen, die in anderen Studien gemessen wurden. Jedoch sind sie im unteren Bereich angesiedelt, betrachtet man die Ruhedurchblutung auf der Regressionsgeraden. Hier finden sich Werte zwischen 1,8% und 3,5%. In PET-Studien, in der der rel. Blutvolumenanteil in der Oberschenkel- bzw. Beinmuskulatur von Kaninchen bestimmt wurde, werden Werte von $3,1 \pm 0,3\%$ bzw. $1,8 \pm 0,1\%$ genannt (Senda, et al., 1992) (Kairento, et al., 1983). Buckley et al. nennen in ihrer MRT-Studie einen Wert von $1,8 \pm 2,0\%$ für die die menschliche Prostata umgebende Beckenbodenmuskulatur (Buckley, Roberts, Parker, Logue, & Hutchinson, 2004). Bei Kaninchen wurde in einer weiteren MRT-Studie ein Volumen von $4,0 \pm 1,4\%$ in der einen implantierten Tumor umgebenden Muskulatur beschrieben (Qi, et al., 2008). Raitakari et al. beschreiben in einer weiteren PET-Studie ein rel. Blutvolumen von $3,4 \pm 0,1\%$ in der menschlichen

Oberschenkelmuskulatur (Raitakari, et al., 1995) Auffallend hoch dagegen sind die Werte in der Studie von Brix et al. Sie nennen zum Beispiel in einer CT-Studie zur Charakterisierung der Mikrozirkulation relative Blutvolumina von $5,09 \pm 1,05\%$ in der menschlichen Nackenmuskulatur (Brix, et al., 1999). Die Höhe ihrer Werte begründen sie mit der Tatsache, dass bei der Untersuchung eine erhöhte Aktivität zur Stabilisierung des Kopfes in der untersuchten Nackenmuskulatur erforderlich war, welche eine erhöhte Durchblutung zu Folge hatte. Die in der Studie genannten relativen Blutvolumina können hinsichtlich ihrer Höhe angezweifelt werden, da CT-Kontrastmittel sich wie niedermolekulare MRT-Kontrastmittel verhalten und leicht extravasieren. Das intravaskuläre Signal ist daher schwierig vom interstitiellen zu trennen, was eine mögliche Fehlerquelle darstellt.

Tabelle 4 fasst die gemessenen Werte, Lokalisationen und Methodik der in den zitierten Studien vorgenommenen Bestimmungen des relativen Blutvolumens zusammen.

Referenz	Methodik	Subjekt	Muskulatur	Status	Rel. Blutvol. in [%]
Raitakari, et al., 1995	PET*	Mensch	Oberschenkel	Ruhe	$3,4 \pm 0,1$
Brix, et al., 1999	Dyn. CT*	Mensch	Hals	Nicht definiert	$5,09 \pm 1,05$
Senda, et al., 1992	PET*	Kaninchen	Bein	Ruhe	$3,2 \pm 0,31$
Kairento, et al., 1983	PET*	Kaninchen	Oberschenkel	Ruhe	$1,9 \pm 0,1$
Qi, et al., 2008	MRT	Kaninchen	Muskulatur in Umgebung eines Tumors	Ruhe	$4,0 \pm 1,4$
Buckley, et al., 2004	MRT	Mensch	Beckenboden	Ruhe	$1,8 \pm 2,0$
*Bei den PET-Studien und der CT-Studie wurden die dort gemachten Angaben von ml/100 g Gewebe in % umgerechnet mit Hilfe der in den Studien genannten Gewebedichten (g/ml).					

Tabelle 4 Literaturangaben relativer Blutvolumina in verschiedenen Muskelregionen unterschiedlicher Spezies aus MRT-, PET- und CT-Studien.

4.9. Schlussfolgerungen

Zur abschließenden Bewertung der hier durchgeführten experimentellen Validierung der DCE-MRI ist Folgendes festzuhalten: Die gewählte Versuchsanordnung und die etablierte Auswertungsroutine sind robust und gut geeignet, reproduzierbare Ergebnisse zu liefern. Die bestimmten Werte für die relativen Blutvolumina in den Muskelkompartimenten liegen in den Wertbereichen, die in der Literatur sowohl für PET-, CT-Studien als auch MRT-Studien genannt werden, auch wenn sie eher niedrig ausfallen. Somit ist die Skelettmuskulatur gut geeignet für validierende Perfusionsmessungen. Die Effekte der Adenosinabgaben auf Knochen-, Haut- und Fettgewebe sind in Übereinstimmung mit der vorhandenen Literatur. Das durch Adenosin hervorgerufene regionale Verteilungsmuster in der Durchblutungssteigerung sowie dessen Dosis-Wirkungs-Beziehung sind anhand tierexperimenteller Studien und Studien am Menschen erklärbar.

Die hier durchgeführte evaluierende Untersuchung des Zusammenhangs zwischen dopplersonografisch bestimmter Perfusion und dem mittels DCE-MRI bestimmten Parameter des relativen Blutvolumens, welcher vereinfacht auch als Zusammenhang zwischen Perfusion und Gefäßradius zum Quadrat ausgedrückt werden kann, ist nicht ohne weiteres auf andere Gefäßareale übertragbar. Bezogen auf die Nieren z.B. existiert in einem weiten Bereich ein signifikant linearer Zusammenhang zwischen Perfusion und Gefäßradius. Es lässt sich daraus ableiten, dass für zukünftige Untersuchungen der Perfusion mittels DCE-MRI die Eigenschaften des untersuchten Zielgewebes berücksichtigt und daran angepasste Modelle zur Auswertung angewendet werden müssen. Dabei kann die Verwendung der neuen Kompartimentmodelle, wie z.B. der 4-Parameter-Modelle von Nutzen sein.

5 Zusammenfassung

Um die Strahlentherapie maligner Tumore effektiver durchzuführen, ist die Kenntnis funktioneller Gewebeparameter, wie z.B. der Perfusion, von großem Interesse, da eine höhere Sauerstoffversorgung eines Gewebes eine erhöhte Strahlensensitivität zur Folge hat. So könnte die Bestimmung der Perfusion eine an Gewebeeigenschaften angepasste Radiotherapie ermöglichen. Als ein prinzipiell geeignetes Verfahren zur orts aufgelösten parametrischen Bildgebung solcher Gewebeparameter gilt die dynamisch kontrastmittelverstärkte Magnetresonanztomographie (DCE-MRI). Auf dem Weg der Einführung dieser Methode in die klinische Anwendung war es das Ziel dieser Arbeit, eine tierexperimentelle Validierung der Perfusionsbildgebung durchzuführen. Es wurde als Gewebe Skelettmuskulatur gewählt, da diese hinsichtlich ihrer niedrigen Ruheperfusion einigen Tumoren gleicht und gleichzeitig eine hohe Perfusionsreserve besitzt. An 6 weiblichen Hausschweinen wurden jeweils 3 dynamische magnetresonanztomographische (MRT) Messungen an einem Hinterlauf durchgeführt. Für die dynamischen Messungen wurden jeweils ein hochmolekulares und ein niedermolekulares Kontrastmittel mit unterschiedlicher Pharmakokinetik benutzt. Die Messungen erfolgten während 3 verschiedener Perfusionszustände, welche durch intraarterielle Gabe von Adenosin in die Arteria femoralis generiert wurden. Als Referenz wurde mittels einer Ultraschall-Doppler-sonde der Blutfluss in der zuführenden Arteria femoralis bestimmt. Aus den MRT-Messungen wurden in der nachfolgenden Auswertung als Parameter relative Blutvolumina in verschiedenen Gewebesegmenten des Schweinehinterlaufes bestimmt und diese mit den per Ultraschall gemessenen Blutflüssen korreliert. Im Ergebnis zeigen sich positive Korrelationen zwischen dem Blutfluss und den relativen Blutvolumina in allen Muskelsegmenten, welche in zwei Muskelsegmenten signifikant ($p < 0,05$) waren. Das hier etablierte experimentelle Vorgehen erwies sich als robust und gut geeignet für das Vorhaben. Jedoch wurde in der hier durchgeführten Validierung nur ein einziger Parameter betrachtet (relatives Blutvolumen). Vor klinischer Anwendung der Methode sollten weitere Validierungen funktioneller Parameter angepasst an das zu untersuchende Gewebe erfolgen. Dabei kann die Anwendung neuerer Kompartimentmodelle, wie z.B. der 4-Parameter-Modelle hilfreich sein.

6 Anhang

6.1 Literaturverzeichnis

1. Alber, M., Paulsen, F., Eschmann, S., Machulla, H. (2003): On biologically conformal boost dose optimization. *Phys Med Biol*, 48, 31-35.
2. Barbier, E. B., Peters, A., Rozeboom, A. (1999): A model of the dual effect of gadopentate dimeglumine on dynamic brain images. *J Magn Reson Imaging*, 10, 242-253.
3. Bentzen, S. M. (2005): Theragnostic imaging for radiation oncology: dose-painting by numbers. *Lancet Oncol*, 6, 112-117.
4. Bley, C.-H., Centgraf, M., Cieslik, A., Hack, J., Hohloch, L. (2015): *I care Anatomie und Physiologie*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
5. Boxermann, J., Schmainda, K., Weisskopf, R. (2006): Relative cerebral blood volume maps corrected for contrast agent extravasation significantly correlate with glioma tumor grade, whereas uncorrected do not. *Am J Neuroradiol*, 27, 859-867.
6. Brinker, M., Lipton, H., Cook, S., Hyman, A. (1990): Pharmacological regulation of the circulation of bone. *J Bone Joint Surg Am*, 72, 964-975.
7. Brix, G., Bahner, M. L., Hoffmann, U., Horvath, A., Schreiber, W. (1999): Regional Blood Flow, Capillary Permeability and Compartmental Volumes: Measurement with Dynamic CT- Initial Experience. *Radiology*, 210, 269-276.
8. Brix, G., Kiessling, F., Lucht, R., Darai, S., Wasser, K., Delorme, S., Griebel, J. (2004): Microcirculation and microvasculature in breast tumors: pharmacokinetic analysis of dynamic MR image series. *Magn Reson Med*, 52, 420-429.
9. Brix, G., Semmler, W., Port, R., Schad, L., Layer, G., Lorenz, W. (1991): Pharmacokinetic parameters in CNS Gd-DTPA enhanced MR-Imaging. *J Comput Assist Tomogr*, 4, 621-628.
10. Brizel, D. M., Sibley, G. S., Prosnitz, L., Scher, L. R., Dewhirst, M. W. (1997): Tumor hypoxia adversely affects the prognosis of carcinoma of the head and neck. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 38, 285-289.
11. Bruening, R., Kwong, K. K., Vevea, M. J., Hochberg, F. H., Cher, L., Harsh, I. G., Rosen, B. R. (1996): Echo planar MR determination of relative cerebral blood volume in human brain tumors: T1 versus T2 weighting. *Am J Neuroradiol*, 17, 831-840.

12. Buckley, D., Roberts, C., Parker, G., Logue, J., Hutchinson, C. (2004): Prostate Cancer: Evaluation of Vascular Characteristics with Dynamic Contrast-enhanced T1-weighted MR Imaging-Initial Experience. *Radiology*, 233, 709-715.
13. Busse, R. (1997): Gefäßsystem und Kreislaufregulation. *In*: Schmid, R., Thews, G., *Physiologie des Menschen*; S. 498-560. Heidelberg: Springer.
14. Carinopharm GmbH Elze, Deutschland. (2008): Fachinformation des Arzneimittels Adenosin Life Medical. Deutschland.
15. Chao, K.S., Bosch, W.R., Mutic, S., Lewis, J.S., Dehdashti, F., Mintun, M.A., Dempsey, J.F., Perez, C.A., Purdy, J.A., Welch, M. J. (2001): A novel approach to overcome hypoxic tumor resistance: Cu-ATSM-guided intensity-modulated radiation therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 55, 1171-1182.
16. Christian, N., Lee, J. A., Bol, A., De Bast, M., Jordan, B., Gregoire, V. (2009): The limitation of PET imaging for biological adaptive-imrt assessed in animal models. *Radiother Oncol*, 91, 101-106.
17. Cochrane, E., McCarthy, I. (1991). Rapid effects of parathyroid hormone (1-34) and prostaglandin E2 on bone blood flow and strontium clearance in the rat in vivo. *J Endocrinol*, 131, 359-365.
18. Degani, H., Gosis, V., Weinstein, D., Fields, S., Strano, S. (1997): Mapping pathophysiological features of breast tumors by MRI at high spatial resolution. *Nature Medicine*, 3, 780-782.
19. Dehdashti, F., Grigsby, P. W., Mintum, M. A., Lewis, J. S., Siegel, B. A., Welch, M. J. (2003): Assessing tumor hypoxia in cervical cancer by positron emission tomography with 60Cu-ATSM: relationship to therapeutic response-a preliminary report. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 46, 1233-1238.
20. Dehdashti, F., Mintun, M. A., Lewis, J. S., Bradley, J., Govindan, R., Laforest, R., Welch, M. J., Siegel, B. A. (2003): In vivo assessment of tumor hypoxia in lung cancer with 60Cu-ATSM. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 30, 844-850.
21. Donahue, K. M., Weisskopf, R. M., Parmelee, D. J., Callahan, R. J., Wilkinson, R. A., Mandeville, J. B., Rosen, B. R. (1995): Dynamic Gd-DTPA enhanced MRI measurement of tissue cell volume fraction. *Magn Reson Med*, 34, 423-432.
22. Froehlich, J. M. (2009): MR-Kontrastmittel. *In*: Weishaupt, D., Koechli, V.D. & Marincek, B. (Eds.): *Wie funktioniert MRI?* 6. Auflage, S. 89-120. Heidelberg: Springer.

23. Fyles, A., Milosevic, M., Hedley, D., Pintilie, M., Levin, W., Manchul, L., & Hill, R. (2002): Tumor hypoxia has independent predictor impact only in patients with node-negative cervix cancer. *J Clin Oncol*, 20, 680-687.
24. Gekle, M.W. (2010): Transportprozesse und Signaltransduktion. In: Gekle, M.W., Gründer, S., Petersen, M., Schwab, A., Markwardt, F., Klöcker, N., Baumann, R., Marti, H. (Eds). *Taschenlehrbuch Physiologie*. S. 18-46. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
25. Guerbet. (2008). Fachinformation zu Dotarem.
26. Hamilton, W., Moore, J., Kinsman, J., Spurling, R. (1932): Studies on the circulation. Further analysis of the injection method, and of changes in hemodynamics under physiological and pathological conditions. *Am J Physiol*, 99, 534-551.
27. Hawinghorst, H., Knapstein, P. G., Knopp, M. V., Weikel, W., Brix, G., Zuna, I., Schoenberg, S. O., Essig, M., Vaupel, P., van Kaick, G. (1998): Uterine cervical carcinoma: comparison of standard and pharmacokinetic analysis of time-intensity curves for assessment of tumor angiogenesis and patient survival. *Cancer Res*, 58, 3598-3602.
28. Hawinghorst, H., Knapstein, P. G., Weikel, W., Knopp, M. V., Zuna, I., Knof, A., Brix, G., Schaeffer, U., Wilkens, C., Schoenberg, S. O., Essig, M., Vaupel, P., van Kaick, G. (1997): Angiogenesis of uterine cervical carcinoma: characterization by pharmacokinetic magnetic resonance parameters and histological microvessel density with correlation to lymphatic involvement. *Cancer Res*, 57, 4777-4786.
29. Heinonen, I., Kemppainen, J., Kaskinoro, K., Peltonen, J. E., Borra, R., Lindroos, M. M., Oikonen, V., Nuutila, J., Knuuti, J., Hellsten, Y., Boushel, R., Kalliokoski, K. K. (2010): Comparison of exogenous adenosine and voluntary exercise on human skeletal muscle perfusion and perfusion heterogeneity. *J Appl. Physiol*, 108, 378-386.
30. Hicks, R., Rischin, D., Fisher, R., Binns, D., Scott, A., Peters, L. (2005): Utility of FMISO PET in advanced head and neck cancer treated with chemoradiation incorporating a hypoxia-targeting chemotherapy agent. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 32, 1384-1391.
31. Hindel, S., Papanastasiou, G., Wust, P., Maaß, M., Söhner, A., Lüdemann, L. (2017): Evaluation of Pharmacokinetic Models for Perfusion Imaging with Dynamic Contrast-Enhanced Magnetic Resonance Imaging in Porcine Skeletal Muscle Using Low-Molecular-Weight Contrast Agents, eingereicht zur Publikation in *Magn Reson Med*

32. Hunter, G., Hamberg, L., Choi, N., Jain, R., McCloud, T., Fischman, A. (1998): Dynamic T1 weighted magnetic resonance imaging and positron emission tomography in patients with lung cancer: correlating vascular physiology with glucose metabolism. *Clin Cancer Res*, 9, 172-176.
33. Junqueira, L., Caneiro, J., Schiebler, T. (1996). *Histologie*. New York: Springer Verlag.
34. Kairento, A., Brownell, G., Schluederberg, J., Elmaleh, D. (1983): Regional blood-flow measurements in rabbit soft-tissue tumor with positron imaging using C15O2 steady-state and labeled microspheres. *J Nucl Med*, 24, 1135-1142.
35. Kaiser, G.M., Breuckmann, F., Aker, S., Eggebrecht, H., Kuehl, H., Erbel, R., Fruhauf, N.R., Broelsch, C.E., Quick, H.H. (2007): Anesthesia for cardiovascular interventions and magnetic resonance imaging in pigs. *J Am Assoc Lab Anim Sci*. 46; S.30-33.
36. Koch, L., Britton, S., Mettin, P. (1990): Adenosine is not essential for exercise hyperemia in the hindlimb of conscious dogs. *J Physiol*, 429, 63-75.
37. Kuperman, V. Y., Alley, M. T. (1999): Differentiation between the effects of T1 and T2* shortening in contrast enhanced MRI of the breast. *J Magn Reson Imaging*, 9, 172-176.
38. Kuschinsky, W. (1999). *Kreislauf*. In: Deetjen, P., Speckmann, E.J.(Eds.): *Physiologie*. S. 317-322. München: Urban & Fischer.
39. Lantheus Medical Imaging, USA. (2013). *Fachinformation Ablavar*.
40. Larsson, H. B., Stubgaard, M., Sondergaard, L., Henriksen, O. (1994): In vivo quantification of the unidirectional influx constant for Gd-DTPA diffusion across the myocardial capillaries with MR imaging. *J Magn Reson Imaging*, 4, 433-440.
41. Laubenbacher, C. S. (1991): The potential role of positron emission tomography in investigation of the microenvironment. In: Molls, M., Vaupel, P (Eds.): *Blood Perfusion and Microenvironment of Human Tumors*. S. 161-191. Berlin: Springer.
42. Lee, N. L. (2008): New developments in radiation therapy for head and neck cancer: intensity modulated radiation therapy and hypoxia targeting. *Semin Oncol*, 35, 236-250.
43. Li, K.-L., Zhu, X. P., Waterton, J., Jackson, A. (2000): Improved 3D Quantitative Mapping of Blood Volume and Endothelial Permeability in Brain Tumors. *J Magn Reson Imaging*, 12, 347-357.

44. Ling, C., Humm, J., Larson, S., Amols, H., Fuks, Z., Leibel, S., Koutcher, J. (2000): Towards multidimensional radiotherapy (MD-CRT): biological imaging and biological conformality. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 47, 551-60.
45. Lüdemann, L., Grieger, W., Wurm, R., Wust, P., Zimmer, C. (2005): Quantitative measurement of leakage volume and permeability in gliomas, meningiomas and brain metastases with dynamic contrast enhanced MRI. *Magn Reson Imaging*, 23, 833-841.
46. Lüdemann, L., Hamm, B., Zimmer, C. (2000): Pharmakokinetik analysis of glioma compartments with dynamic Gd-DTPA-enhanced MRI. *Magn Reson Imaging*, 18, 1201-1214.
47. Lüdemann, L., Nafz, B., Elsner, F., Grosse-Siestrup, C., Meissler, M., Kaufels, N., Rehbein, H., Persson, P.B., Michaely, H.J., Lengsfeld, P., Voth, M., Gutberlet, M. (2009): Absolute quantification of regional renal blood flow in swine by dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging using a blood pool contrast agent. *Invest Radiol*, 44, 125-134.
48. Lüdemann, L., Nafz, B., Elsner, F., Große-Siestrup, C., Meissler, M., Persson, P., Gutberlet, M., Lengsfeld, P., Voth, M. (2011): Dependence of Renal Blood Flow on Renal Artery Stenosis Measured Using CT Angiography. *Fortschr Röntgenstr*, 183, 267-273.
49. Lüdemann, L., Wurm, R., Zimmer, C. (2002): Pharmakokinetik modeling of Gd-DTPA extravasation in brain tumors. *Invest Radiol*, 37, 562-570.
50. Lüllmann, H., Mohr, K., Hein, L. (2010). *Pharmakologie und Toxikologie*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
51. Senda, M., Fischmann, A.J., Weise, S.; Alpert, N., Rubin, R., Strauss, H. (1992): Regional perfusion, oxygen metabolism blood volume and immunoglobulin G accumulation at focal sites of infection in rabbits. *Eur J Nucl Med*, 19, 166-172.
52. Marino, P.L., Sutin, K.M. (2008): *Das ICU-Buch: Praktische Intensivmedizin*. 4. Auflage, München, Jena: Elsevier Urban-Fischer; s. bes. S. 238-240.
53. Martin, E., Nicholson, W.T., Eisenach, J., Charkoudian, N., Joyner, M. (2006): Bimodal distribution of vasodilator responsiveness to adenosine due to difference in nitric oxide contribution: implications for exercise hyperemia. *J Appl Physiol*, 101, 492-499.
54. Mortensen, S., Saltin P. (2014): Regulation of the skeletal muscle blood flow in humans. *Exp. Physiol.* 99, 1552-1558.
55. Nagel, E., al Saadi, N., Fleck, E. (2000): Cardiovascular magnetic resonance myocardial perfusion. *Herz*, 25, 409-416.

56. Nahum, A., Movsas, B., Horwitz, E., Stobbe, C., Chapman, J. (2003): Incorporating clinical measurements of hypoxia into tumor local control modeling of prostate cancer: implications for the alpha/beta ratio. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 52, 391-401.
57. Nakamura, Y., Awa, S.: Radius exponent in elastic and rigid arterial models optimized by the least energy principle. *Physiological Reports* 2 (2) 2014, Online Publikation; physreports.physiology.org
58. Nordsmark, M., Overgaard, J. (2000): A confirmatory prognostic study on oxygenation status and loco regional control in head and neck squamous cell carcinoma treated by radiation therapy. *Radioth Oncol*, 57, 39-43.
59. Nordsmark, M., Overgaard, M., & Overgaard, J. (1996): Pretreatment oxygenation predicts radiation response in advanced squamous cell carcinoma of the head and neck. *Radiother Oncol*, 41, 31-39.
60. Piert, M., Machulla, H., Picchio, M., Reischl, G., Ziegler, S., Kumar, P., Wester, H. J., Beck, R., McEwan, A.J.B., Wiebe, L.I, Schwaiger, M. (2005): Hypoxia-specific tumor imaging with [18]F-fluoroazomycin arabinoside. *J Nucl Med*, 46, 106-113.
61. Pitkänen, O.P., Laine, H., Kemppainen, J., Eronen, E., Alanen, A., Raitakari, M., Kirvelä, O., Ruotsalainen, U., Knuuti, J., Koivisto, V.A., Nuutila, P. (1999): Sodium nitroprusside increases human skeletal muscle blood flow, but does not change flow distribution or glucose uptake. *J Physiol*, 521, 729-737
62. Poucher, S., Nowell, C., Collis, M. (1990): The role of adenosine in exercise hyperaemia of the gracilis muscle in anaesthetized cats. *J Physiol*, 427, 19-29.
63. Qi, X., Burns, P., Hong, L., J, S., Wright, G. (2008): Characterizing blood volume fraction (BVF) in a VX2 tumor. *Magn Reson Imaging*, 26, 206-214.
64. Radegran, G., Calbet, J. (2001): Role of adenosin in exercise-induced human skeletal muscle vasodilatation. *Acta Physiol Scand*, 171, 177-185.
65. Raitakari, M., Juhani Knuuti, M., Ruotsalainen, U., Laine, H., Mäkelä, P., Teräs, M., Sipilä, H., Niskanen, T., Raitakari, O.T., Iida, H., Härkönen, R., Wegelius, U.; Yki-Järvinen, H., Nuutila, P. (1995): Insulin increases blood volume in human skeletal muscle: studies using [15O]CO and positron emission tomography. *Am J Physiol*, 269, 1000-1005.
66. Rajendran, J., Hendrickson, K., Spence, A., Muzi, M., Krohn, A., Mankoff, D. (2006): Hypoxia imaging-directed radiation treatment planning. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 33, 44-53.

67. Rasey, J., Koh, W., Evans, M., Peterson, M., Lewellen, T., Graham, M. M., Krohn, K. (1996): Quantifying local hypoxia in human tumors with positron emission tomography of [18F]fluoromisoniazole: a pretherapy study of 37 patients. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 36, 417-428.
68. Rosen, B. R., Belliveau, J. W., Chien, D. (1989): Perfusion imaging by nuclear magnetic resonance. *Magn Res Q*, 5, 263-281.
69. Rosen, B. R., Belliveau, J. W., Vevea, J. M., Brady, T. (1990): Perfusion imaging with NMR contrast agents. *Magn Reson Med*, 14, 249-265.
70. Schering AG Berlin, Deutschland. (2005). Fachinformation Vasovist.
71. Schmidt, R. F., Thews, G. (1997): *Physiologie des Menschen*. 27. Ed. Berlin: Springer Verlag.
72. Schulte, G. (2004): Adenosin, Adenosinrezeptoren und adenosinrezeptoraktivierte Signalwege. *BIOspektrum*, 10, 159-161.
73. Shames, D. M., Kuwatsuru, R., Vexler, V., Mühler, A., Brasch, R. C. (1993): Measurement of capillary permeability to macromolecules by dynamic resonance imaging: a quantitative noninvasive technique. *Magn Reson Med*, 29, 616-622.
74. Sherman, T. (1981): On connecting large vessels. The meaning of Murray's law. *J Gen Physiol*, 78, 431-453.
75. Smits, P; Williams, S.B., Lipson, D.E., Banitt, P., Rongen, G.A. Creager, M.A. (1995): Endothelial release of nitric oxide contributes to the vasodilator effect of adenosine in humans. *Circulation*, 92, 2135-2141.
76. Sourbron, S., Buckley, D. (2012): Classic models for dynamic contrast-enhanced MRI. *NMR in Biomed*, 8, 1004-1027.
77. Stewart, G. (1897). *Researches on Circulation Time and on the Influences which affect it*. *J Physiol*, 22, 159-183.
78. Swindle, M. M., Smith, A. C. (2015). *Swine in the Laboratory: Surgery, Anesthesia, Imaging and experimental Techniques*. 3. Ed. Boca Raton, Florida, USA: CRC Press.
79. Swindle, M. M., Smith, A., Laber-Laird, K., Dungan, L. (1994): Swine in Biomedical Research: Management and Models. *ILAR J*, 36, 1-5
80. Thews, G. (1997): Blutkreislauf. In: Thews, G., P. Vaupel, P.(Eds.) *Vegetative Physiologie* 3. Ed; S.146-215. Heidelberg: Springer.

81. Thorwarth, D. (2005): Kinetic analysis of ¹⁸F-fluoromisonidazole PET correlates with radiation treatment outcome in head-neck cancer. *BMC Cancer*, 5, 152.
82. Thorwarth, D., Alber, M. (2008): Individualised radiotherapy on the basis of functional imaging with FMISO PET. *Z Med Phys*, 18, 43-50.
83. Thorwarth, D., Eschmann, S. M., Paulsen, F., Alber, M. (2005): A kinetic model for dynamic [¹⁸F]-FMISO PET data to analyse tumor hypoxia. *Phys Med Biol*, 50, 2209-2224.
84. Thorwarth, D., Eschmann, S. M., Paulsen, F., Alber, M. (2007): Hypoxia dose painting by numbers: a planning study. *Int J Oncol Biol Phys*, 68, 291-300.
85. Thorwarth, D., Soukup, M., Alber, M. (2008): Dose painting with IMPT, helical tomotherapy and IMXT: a dosimetric comparison. *Radiother Oncol*, 86, 30-34.
86. Tofts, P. S., Buckley, D. L., Evelhoch, J. L., Henderson, E., Knopp, M. V., Larsson, H. B. W., Lee, T., Mayr, N. A., Parker, G. J. M., Port, R. E.; Taylor, J., Weisskopf, R. M. (1999): Estimating kinetic parameters from dynamic contrast-enhanced T1-weighted MRI of a diffusible tracer: standardized quantities and symbols. *J Magn Reson Imaging*, 30, 223-232.
87. Tong, C. Y., Prato, S., Wisenberg, G., Lee, E., Carroll, T. Y., Sandler, D., Wills, J., Drost, D. (1993): Measurement of the extraction efficiency and distribution of Gd-DTPA in normal and diseased canine myocardium. *Magn Reson Med*, 30, 337-346.
88. Transonic Systems Inc. (1997). Operator's Manual Transonic Animal Research Flowmeter T106/T206 Series.
89. UCB Pharma GmbH, Deutschland (2016), Fachinformation Prostavasin
90. van den Biesen, P. R. (1997): Dye extravasation and the nature of background fluorescence in sodium fluorescein angiography. *Retina*, 17, 540-546.
91. van Lin, E., Futterer, J., Heijmink, S., van der Vight, L., Hoffmann, A., van Kollenburg, P., Huisman, H. S. (2006): IMRT boost dose planning on dominant intraprostatic lesions: gold marker-based three-dimensional fusion of CT with dynamic contrast-enhanced and ¹H-spectroscopic MRI. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 65, 291-303.
92. Vanderstraeten, B., Duthoy, W., W.D., G., Neve, W., Thierens, H. (2006): [¹⁸F] fluoro-deoxy-glucose positron emission tomography ([¹⁸F]FDG-PET) voxel intensity-based modulated radiation therapy (IMRT) for head and neck cancer. *Radiother Oncol*, 3, 249-58.

93. Verstraete, K. L., Vanzielegheem, B., De Deene, Y., De Greef, D., Kristofferson, D. T., Uyttendale, D., Roels, H., Hamers, J., Kunnen, M. (1995): Static, dynamic and first pass MR imaging of musculoskeletal lesions using gadodiamide injection. *Acta Radiologica*, 36, 27-36.
94. Warmuth, C., Nagel, S., Hegemann, O., Wlodarczyk, W., Lüdemann, L. (2007): Accuracy of blood flow values determined by arterial spin labeling. *J Magn Reson Imaging*, 26, 353-358.
95. Webb, S., Nahum, A. (1993): A model for calculating tumor control probability in radiotherapy including the effects of inhomogeneous distributions of dose and clonogenic cell density. *Phys Med Biol*, 38, 653-666.
96. Wenz, F., Rempp, K., Brix, G., Knopp, M. V., Gückel, F., Heß, T., van Kaick, G. (1996): Age dependancy of the regional cerebral blood flow (rCBV) measured with susceptibility contrast MR imaging (DCS). *Magn Reson Imaging*, 14, 157-162.

6.2 Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent
µm	Mikrometer
2CXM	Two-compartment exchange model
A/V/M	Arterie/Vene/Musculus
AATH	Adiabatic approximation to tissue-homogeneity model
ADP	Adenosindiphosphat
AG	Aktiengesellschaft
AIF	Arterial input function
AMP	Adenosinmonophosphat
ASL	Arterial spin labeling
ATP	Adenosintriphosphat
ca.	Circa
cAMP	Zyklisches Adenosinmonophosphat
Ch	1 Charrière=1/3 mm
cm	Zentimeter
CO ₂	Kohlendioxid
CT	Computertomographie
Cu-ATSM	⁶⁰ Cu-Diacetyl-bis(N4)-Methylthiosemicarbazon
DCE-MRI	Dynamic contrast enhanced magnetic resonance imaging
DFG	Deutsche Forschungsgemeinschaft
DP-Modell	Distributed Parameter Modell
DSC-MRI	Dynamic susceptibility magnetic resonance imaging
EKG	Elektrokardiogramm
EMA	European medicines agency
Engl.	englisch

Fa.	Firma
FAZA	^{18}F -Fluoroazomycin
FiO_2	Inspiratorischer Sauerstoffanteil
FMISO	^{18}F -Fluoromisonidazol
F_p	Plasma-Fluss
g	Gramm
G	Gauge
GRAPPA	Generalized Autocalibrating Partially Parallel Acquisition
TWIST	Time-resolved angiography With Interleaved Stochastic Trajectories
GRE	Gradient Echo
H^+	Wasserstoffion
IMRT	Intensitätsmodulierte Strahlentherapie
Inc.	Incorporated
K^+	Kaliumion
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
KM	Kontrastmittel
K^{trans}	Volumentransferkonstante
Lat.	lateinisch
m	Meter
m^2	Quadratmeter
mbar	Millibar
mg	Milligramm
min	Minute
ml	Milliliter

mm	Millimeter
mm ²	Quadratmillimeter
mm ³	Kubikmillimeter
mmHG	Millimeter Quecksilbersäule
mmol	Millimol
Mol/l	Mol pro Liter
MRT	Magnetresonanztomographie
ms	Millisekunde
NRW	Nordrhein-Westfalen
O ₂	Sauerstoff
PDS	Polydioxanonsäure
P _e CO ₂	Endexpiratorischer CO ₂ -Partialdruck
PEEP	Positive endexpiratory pressure
pO ₂	Sauerstoffpartialdruck
PS	Permeabilitätsflächenprodukt
RF	Radiofrequenz
S	Sekunde
SaO ₂	Sauerstoffsättigung
SI	Système internationale d'unités
T	Tesla
TCP	Tumor control probability
TE	Echozeit
TH-Modell	Tissue-homogeneity model
TIVA	Total intravenöse Anästhesie
TR	Repetitionszeit
TSE	Turbo Spin Echo
vb	Blutvolumen

V_e	Interstitielles Volumen
V_p	Plasmavolumen
ZVK	Zentraler Venenkatheter
z.Zt.	Zurzeit

6.3 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1	Bildliche Darstellung der Plasmamodelle.....	20
Abb. 2	Bildliche Darstellung der Interstitiummodelle.....	22
Abb. 3	Bildliche Darstellung des 2-Kompartiment-Austausch-Modell.....	23
Abb. 4	Bildliche Darstellung des TH-Modells.....	24
Abb. 5	Bildliche Darstellung des AATH-Modells.....	25
Abb. 6	Bildliche Darstellung des DP-Modells.....	25
Abb. 7	Schematische Darstellung des Körper- und Lungenkreislaufs.....	26
Abb. 8	Histologischer Wandaufbau einer Arterie (links) und einer Vene (rechts).....	27
Abb. 9	Endstrombahn des Gefäßsystems.....	29
Abb. 10	Strömungsprofile bei (a) laminarer und (b) turbulenter Strömung...	31
Abb. 11	G-Protein vermittelte Signaltransduktion durch Hemmung oder Aktivierung der Adenylatzyklase mit nachfolgender Beeinflussung der intrazellulären cAMP-Konzentration.....	33
Abb. 12	G-Protein vermittelte Signaltransduktion durch Aktivierung der Phospholipase C.....	34
Abb. 13	Aufbau im Großtier-Operationssaal des Zentralen Tierlabors.....	40
Abb. 14	Versuchsanordnung im Bereich der A. femoralis am Hinterlauf des Versuchstieres.....	44
Abb. 15	Aufbau im MRT-Steuerungsraum.....	47
Abb. 16	Aufbau im Untersuchungsraum des MRT.....	48
Abb. 17	Workflow und zeitlicher Rahmen eines einzelnen Schweineexperimentes.....	52
Abb. 18	Zeitliche Darstellung der dynamischen Messung.....	53

Abb. 19	Segmentierung des Schweinehinterlaufes anhand der Software Amira.....	57
Abb. 20	Relaxationsratenänderungen nach KM-Applikation in der Aorta abdominalis.....	58
Abb. 21	Relaxationsratenänderungen nach KM-Applikation im Segment „Unterschenkel“.....	59
Abb. 22	Darstellung des Körpergewichts unterschiedlicher Schweinerassen in Abhängigkeit vom Alter.....	62
Abb. 23	Verteilung der Blutflüsse bei 18 dynamischen MRT-Messungen.....	63
Abb. 24	Blutflusswerte in Abhängigkeit von der applizierten Adenosindosis in den jeweiligen Experimenten.....	64
Abb. 25	Prozentuale Änderungen des Ruheblutfusses in Abhängigkeit von der applizierten Adenosindosis.....	64
Abb. 26-33	Darstellung der relativen Blutvolumina in [%] in Abhängigkeit vom Blutfluss in [ml/min], Regressionsgeradengleichung, Korrelationskoeffizient r, Signifikanz p je Segment.....	65-69

6.4 Tabellenverzeichnis

Tab. 1	Durchblutungsgrößen der menschlichen Organe.....	9
Tab. 2	Legende funktioneller Gewebeparameter.....	18
Tab. 3	Korrelationskoeffizienten, Signifikanz und mittlere quadratische Abweichung in den genannten Segmenten ermittelt aus der Regressionsanalyse zwischen Perfusion und v_b , v_b^2 und $\sqrt{v_b}$ (v_b =relatives Blutvolumen).....	71
Tab. 4	Literaturangaben für relative Blutvolumina in verschiedenen Muskelregionen unterschiedlicher Spezies aus MRT-, PET- und CT-Studien.....	82

6.5 Danksagung

Mein besonderer Dank für seinen Verdienst um die Fertigstellung meiner Arbeit gilt natürlich Herrn PD Dr. rer. nat. L. Lüdemann, der mir die Teilnahme an dieser von ihm konzipierten experimentellen Arbeit ermöglichte. Er war stets ein sehr hilfreicher und motivierender Ansprechpartner sowie geduldiger Mentor und nahm viel Rücksicht auf meine Situation der berufsbegleitenden Promotion.

Ferner möchte ich mich bei Frau Anika Söhner, Herrn Stefan Hindel und Herrn Klaus Eickel für ihre uneigennützige Hilfe bei der Erstellung der Arbeit ausdrücklich bedanken.

Nicht unerwähnt bleiben soll auch der Beitrag der Mitarbeiter des Zentralen Tierlabors, in erster Linie Frau Dr. med. vet. Christine Krüger und Herr Andreas Wissmann, die unserer Arbeitsgruppe nicht nur in tierärztlichen Fragen mit „Rat und Tat“ zur Seite standen.

Abschließend möchte ich mich noch besonders bei meiner Frau für Ihre ausdauernde Bereitschaft, mich bei dieser Arbeit zu unterstützen, bedanken. Ohne diese hätte ich diese Dissertation nicht schreiben können.

6.6 Lebenslauf

Der Lebenslauf ist in der Online-Version aus Gründen des Datenschutzes nicht enthalten.